



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 con choque séptico: evaluación del sistema antioxidante enzimático específico y selenio.

Propuesta de Protocolo de Investigación
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE DOCTOR EN CIENCIAS MÉDICAS

PRESENTA:

Dr. Alfredo Aisa Álvarez

TUTORA:

Dra. María Elena Soto López, INCICH

COMITÉ TUTORIAL:

Dr. Israel Pérez Torres, INCICH

Dra. Gabriela Borrayo Sánchez, CMNSXXI

Dra. Gabriela Meléndez Ramírez
Responsable del Programa de Maestría y Doctorado en ciencias Médicas, INCICH

Ciudad Universitaria, CD. Mx. mayo 2023



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	18
PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	21
OBJETIVOS ESPECÍFICOS DEL ESTUDIO	21
OBJETIVO GENERAL:	21
OBJETIVOS PARTICULARES:	21
HIPÓTESIS	22
HIPÓTESIS ALTERNATIVA:	22
HIPÓTESIS NULA:	22
METODOLOGÍA	22
TIPO DE ESTUDIO	22
POBLACIÓN DE ESTUDIO	23
DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA	23
CRITERIOS DE INCLUSIÓN	23
CRITERIOS DE EXCLUSIÓN	23
CRITERIOS DE ELIMINACIÓN	24
MÉTODO DE MUESTREO	24
CÁLCULO DEL TAMAÑO DE MUESTRA	24

PROCEDENCIA DE LOS SUJETOS	26
ALEATORIZACIÓN	26
MÉTODO DE RECOGIDA DE DATOS	26
DESCRIPCIÓN Y DEFINICIÓN DE LA INTERVENCIÓN	27
DESCRIPCIÓN DEL SEGUIMIENTO DE LOS PACIENTES	28
MODELO CONCEPTUAL DEL ESTUDIO	29
DEFINICIÓN DE LAS VARIABLES	30
OBTENCIÓN DE LA MUESTRA Y ALMACENAMIENTO	33
ESTRATEGIA DE ANÁLISIS	37
LIMITACIONES Y POSIBLES SESGOS DEL ESTUDIO	38
PROBLEMAS ÉTICOS	39
RESULTADOS	40
DISCUSION	80
CONCLUSIÓN	96
PERSPECTIVAS	97
BIBLIOGRAFÍA	98

MARCO TEÓRICO

Las principales moléculas prooxidantes son las especies reactivas de oxígeno (ROS) y las especies reactivas de nitrógeno (RNS). Las ROS incluyen el anión superóxido ($\cdot\text{O}_2^-$), el radical hidroxilo (OH) y el peróxido de hidrogeno (H_2O_2). Las RNS incluyen el óxido nítrico (ON) y el peroxinitrito (ONOO^-) (1) (2). Estas especies reactivas también conocidas como radicales libres, contienen un electrón no apareado que las hace altamente reactivas con otras moléculas como proteínas, lípidos y ADN (3) (4) (5). Las células reaccionan al daño provocado por los ROS entrando en apoptosis y autofagia lo cual lleva a muerte celular y daño tisular provocando falla orgánica (6). Los ROS y las RNS son producidos en diversos procesos fisiológicos como la respiración celular, respuesta inmune, apoptosis, proliferación y expresión de genes (4) (7). En este proceso de fosforilación oxidativa, el oxígeno es utilizado como receptor de electrones por otras moléculas para generar energía en forma de adenosin trifosfato (ATP). El oxígeno es posteriormente reducido en agua. Sin embargo, en 0.1% a 0.2% de estos procesos biológicos el oxígeno no se reduce completamente produciéndose los ROS (8).

Las ROS son ubicuas, altamente reactivas, de tiempo de vida media muy corto, se producen en el metabolismo del oxígeno en todos los sistemas biológicos aeróbicos y reaccionan con todas las moléculas que se encuentran a su alrededor, empezando con aquellas que se encuentran muy cercanas a su sitio de formación. Los radicales libres son moléculas que se consideran dentro de las ROS y se definen como átomos o moléculas con uno o más electrones desapareados en alguno de sus orbitales electrónicos, es ese electrón el que le proporciona su alta capacidad reactiva. El O_2 tiene una configuración electrónica única y la adición de un electrón forma el radical O_2^- . Este radical puede ser producido por diferentes

mecanismos que dan lugar a la activación del O_2 . La producción del radical O_2^- se origina principalmente en la mitocondria (9).

Los ROS y las RNS son producidas por enzimas como la nicotinamina adenina dinucleótido fosfato oxidasa (NOX), xantino oxidasa (XO) y la sintasa de óxido nítrico (NOS). La NOX es un complejo enzimático que se encuentra en la bicapa lipídica de la membrana celular, en los peroxisomas y dentro de la mitocondria. NADPH oxidasa es capaz de generar radicales $\cdot O_2^-$ al utilizar oxígeno y NADPH del citosol. El O_2^- es un oxidante débil que puede ser dismutado en H_2O_2 . EL H_2O_2 es liposoluble y puede atravesar las membranas celulares provocando daño a las membranas lipídicas y el ADN (10). También reacciona con metales de transición como el hierro o cobre y con el radical O^- produciendo radical OH (1). El radical OH es el más agresivo y deletéreo, es el responsable del daño a la mayor parte de las moléculas y puede interactuar prácticamente con cualquier molécula orgánica e inorgánica (8).

Durante condiciones fisiológicas el sistema redox produce radicales libres a través de la sintetasa de óxido nítrico endotelial (eNOS) la cual produce óxido nítrico (ON), involucrado en diversas funciones fisiológicas como la neurotransmisión, vasodilatación e inmunidad. Durante la sepsis, los fagocitos liberan ON y producen $ONOO^-$ el cual se descompone en radicales hidroxilo y dióxido de nitrógeno (11).

Los antioxidantes son sustancias que previenen la transferencia de electrones de una molécula orgánica a otra (12), que estabilizan radicales orgánicos o que terminan reacciones de radicales orgánicos (13). Por lo tanto, los antioxidantes contrarrestan los efectos de las ROS y RNS. Las principales enzimas antioxidantes del cuerpo humano son el glutatión peroxidasa (GPx), el superóxido dismutasa (SOD), la catalasa (CAT) y la tioredoxina (Trx), entre otras.

El glutatión en su forma reducida (GSH) es una molécula fundamental en el citoplasma y la mitocondria; la GPx produce glutatión disulfuro (GSSH) y agua a través del peróxido de hidrógeno. GSSH se reduce a GSH por la glutatión reductasa (GR) (14). Existen varias isoformas de GPx; una es selenio (Se) dependiente y la otra es independiente de Se. El GSH por sí solo es un antioxidante endógeno que es utilizado como sustrato por el sistema del glutatión, pero también actúa como secuestrador directo de ROS (15).

Las SOD son metaloenzimas que catalizan la dismutación del anión O_2^- a H_2O_2 y O_2 molecular. Existen 3 isoformas en los mamíferos: subtipo 1 o citosol-cobre-zinc (Cu-Zn); subtipo 2 o mitocondrial-manganeso; subtipo 3 o extracelular-Cu-Zn.

La CAT es un conjunto enzimático localizado en la bicapa lipídica de la membrana celular que convierte el H_2O_2 en oxígeno y OH (16). También utiliza el H_2O_2 para la oxidación de alcoholes y fenoles (15).

Por otra parte, las peroxidasas son enzimas que pertenecen a la clase de oxido reductasas. Estas actúan descomponiendo varios peróxidos como el peróxido de hidrógeno (ROOH) evitando la oxidación de sustratos orgánicos e inorgánicos (17). Se encuentran en una gran variedad de organismos (ej. plantas, bacterias, humanos), en varias isoformas y son principalmente proteínas hemo que contienen protoporfirina IX. Dependiendo de la presencia o ausencia del grupo hemo se clasifican como hemo o no hemo peroxidasas (18). Estas se caracterizan por su acción catalítica y habilidad para actuar en la oxidación de una gran variedad de compuestos como fenoles, aminas e hidrocarburos aromáticos policíclicos (19). La capacidad catalítica de las peroxidasas se asocia a cuatro diferentes tipos de reacciones: per oxidativa, oxidativa, catalítica y de hidroxilación (19).

En cuanto a los tioles, los tioles de bajo peso molecular juegan un papel fundamental en los procesos celulares de oxido reducción. Los grupos tioles reaccionan con electrófilos y

oxidantes y tienen alta afinidad por metales haciéndolos adaptables para diversos procesos biológicos. Existe un delicado balance entre las reacciones benéficas y deletéreas derivadas de los grupos tioles. La reducción y oxidación de los grupos tioles en los sistemas biológicos promueve la formación de varios productos reversibles e irreversibles que pueden ser recuperados por la acción de diferentes reductores celulares como el GSH y la Trx. Son de particular interés los productos de la oxidación de Cys, ácido sulfónico, S-nitrosotioles y disulfitos debido a su papel en el ciclo redox y/o en la regulación de enzimas y factores de transcripción involucrados en procesos de señalización (20). La Trx tiene propiedades inmunomoduladoras y proinflamatorias por la acción sobre el NF- κ B (21). Los principales sistemas reguladores para mantener el control del ambiente redox en las células son el Trx/peroxy-redoxin/metionina sulfónico reductasa y el GSH/GPx/glutatio N -S-transferasa (GST)/glutaredoxin (Grd). Estos dos sistemas contienen la Trx y Grd las cuales contienen grupos tioles en sus sitios activos formados por dos residuos de cisteína (22). Actúan como donantes de hidrogeno para el ribonucleótido reductasa y son necesarios para varias enzimas metabólicas que contienen un puente disulfuro en su sitio catalítico. Entre sus funciones se incluyen la regulación del plegamiento de proteínas, la disminución del dehidroascorbato y la reparación de proteínas alteradas por el EO y metabolismo de sulfuro (22).

Las formas de Trx que tienen disulfuro oxidado son reducidas por NADPH y Trx reductasa, mientras que las formas de Grd son reducidas por el GSH utilizando electrones donados de NADPH. En el retículo endoplásmico, el rango oxidado del plegamiento proteico es 1:1 a 1:3 con respecto a la relación GSH/GSSG. Por lo tanto, la formación de disulfuro es dependiente de la compartimentalización de la química oxidada. Esto previene a la celula de ser expuesta a eventos de oxidación no específicos, entre los cuales los sistemas GSH/Grd

y Trx son necesarios para la homeostasis redox. La pérdida de Trx o Trx reductasa lleva a una pérdida del balance en la relación GSH/GSSG lo cual promueve un estado redox sensible a estrés reductor (23). Trx mantiene la homeostasis redox en respuesta al EO y estrés reductor, particularmente se requiere para para la protección ante el estrés reductor mediante la exposición de ditiotreitól (DTT) en la levadura *Saccharomyces cerevisiae*.

La Trx convierte el H_2O_2 en agua y Trx oxidada la cual posteriormente es reducida a Trx por una reductasa dependiente de NADPH (24). La Trx reducida puede reducir el ácido ascórbico utilizando Se cómo cofactor (25).

Sepsis

Por otra parte, 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) (26). 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 (27–29) 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) (30).

En este sentido, en pacientes críticamente enfermos con choque séptico es de vital importancia mantener el equilibrio prooxidante y antioxidante, ya que tanto la respuesta inflamatoria sistémica (31) como el EO, son diferentes condiciones clínicas que en un mismo paciente provocan disfunción endotelial aguda, lo cual favorece la inflamación, coagulación e incremento de la permeabilidad capilar (32). Estas cascadas de eventos

conllevar a múltiples facetas en el daño orgánico en el cual ocurre paralelamente edema pulmonar no cardiogénico, coagulación intravascular diseminada e isquemia, entre otros. Además, existen otras condiciones como la redistribución y pérdida de líquidos corporales, la ingesta inadecuada de alimentos que contribuyen de forma secundaria a una disminución de los antioxidantes naturales (33).

Existe sin duda el concepto final de que existe falla bioenergética, lo cual puede tener como base fisiopatológica la disfunción mitocondrial dentro del mecanismo de daño del choque séptico. Las mitocondrias disfuncionales tienen una disminución en la captación de O_2 y la disfunción respiratoria es secundaria a inhibición de la transferencia de electrones que puede ser inferida por la disminución en la tasa de respiración (34). La inhibición en la transferencia de electrones puede estar condicionada por una producción excesiva de ON o por las mtONS (óxido nítrico sintetasa mitocondrial), que condiciona a su vez lo siguiente: a) un efecto irreversible de ON y ONOO sobre la NADH – ubiquitina reductasa y sobre el ubiquinol– citocromo c reductasa y b) una inhibición O_2 competitiva de la actividad de citocromo oxidasa. La disminución de la tasa de respiración de la mitocondria aislada va de la mano con la disminución de la temperatura y captura general de O_2 , evento que se distingue en el choque séptico. La inhibición de la captación de O_2 a nivel mitocondrial es parcialmente reversible in vitro por la adición de albumina sérica, lo cual significa que puede ser debida a los ácidos grasos. La disfunción mitocondrial en choque séptico es reversible, ya que se ha observado pacientes que se han recuperado. Un evento fisiopatológico en sepsis es la disfunción mitocondrial que se manifiesta clínicamente por un incremento en los niveles de lactato, asociado con mal pronóstico (35). En el choque séptico, existe hiporreactividad de causa multifactorial, los ONOO⁻ interfieren con la habilidad de GSH para reducir la hiporreactividad vascular y la disfunción endotelial (36). En este estudio, se

demonstró que la Vit C redujo ONOO^- con significancia estadística y en el grupo tratado con melatonina se observó una tendencia a disminuir sus niveles. En un modelo animal se ha evaluado el efecto de la SOD, encontrado que aunque exista eliminación del O_2^- las catecolaminas encargadas de la vasoconstricción no son desactivadas (37) y la xantina oxidasa se acumula cuando disminuyen los niveles de ATP, lo cual se debe a disminución del aporte de O_2 en la sepsis (38). Se ha demostrado que la sobrevida disminuye en pacientes con niveles más elevados de xantina oxidasa (39). El ON tiene un papel importante en la hipotensión durante el choque séptico, el daño hepático secundario condiciona producción de endotoxinas que disminuyen los niveles de los antioxidantes naturales (Se y Zn). Clínicamente, diversos estudios han demostrado que suplementar a los pacientes con Se puede disminuir la mortalidad (40). La mención de este efecto es en razón a que el ON se sintetiza en el endotelio por la sintetasa de óxido nítrico (ONS) y la producción fisiológica del ON es de suma importancia para la regulación de la presión sanguínea y la distribución del flujo. Sin embargo, la sobreproducción de ON inducida por la ONS se ha demostrado que contribuye a hipo reactividad vascular, hipotensión y alteraciones cardiovasculares.

En la fisiopatología de la sepsis, las células del sistema inmune innato expresan receptores que reconocen estructuras muy conservadas de los microorganismos. Los receptores presentan ligandos específicos que activan vías de señalización que inducen hacia la respuesta inflamatoria. Este proceso requiere de múltiples moléculas adaptadoras intracelulares que se asocian al dominio citoplasmático de algunas proteínas como las TLR, que inducen la disociación del complejo del factor de transcripción NF-KB; este factor se transloca al núcleo e induce la transcripción de los genes que codifican citosinas pro inflamatorias lo cual ha sido demostrado en pacientes sépticos (41). Los lipopolisacáridos

(LPS) localizados en la pared celular de las bacterias gramnegativas y los peptidoglicanos (PGN) de las bacterias grampositivas conocidos como patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs), pueden ser reconocidos a través de TLR4 y TLR2, el ADN de la bacteria es reconocido por TLR9. Por lo tanto, este reconocimiento inicial de los patógenos se lleva a cabo varias poblaciones celulares como macrófagos y mastocitos residentes en los tejidos, los cuales, ante esa exposición liberan mediadores inflamatorios como quimiocinas, citocinas, aminas vasoactivas, eicosanoides y productos de cascadas proteolíticas. Las citocinas como TNF- α , IL-1 β , e IL-6 inducen la respuesta de fase aguda, así como la activación del endotelio y de otros leucocitos. Por lo tanto, el daño causado por la liberación de todos ellos en los tejidos induce, a su vez, liberación de moléculas endógenas que también activan al sistema inmune. Algunas proteínas modifican el plegamiento del ADN el cual es liberado a la matriz extracelular por células necróticas o de manera activa por monocitos y macrófagos activados, su concentración plasmática en pacientes con choque séptico induce a la activación del TLR2 y TLR4 lo cual a su vez incrementa la producción de citocinas (42).

Los LPS y las citocinas como el TNF, interleucina-1 e interferón gamma inducen la expresión de ONS en el endotelio, en el músculo liso, macrófagos y en las células parenquimatosas (43). La sobre producción de O_2^- tiene un papel fundamental en las secuelas del choque séptico. Algunas de las propiedades proinflamatorias del O_2^- incluyen el reclutamiento de neutrófilos a los sitios de mayor daño, formación de factores quimiotácticos, daño al ADN, iniciación de la peroxidación y liberación de citocinas proinflamatorias. El ONOO $^-$ por otro lado perpetúa el efecto proinflamatorio del O_2^- , y también desactiva a la SOD (43). Además, posee efectos proinflamatorios citotóxicos independientes los cuales incluyen: la iniciación de la LPO, la inactivación de una gran

cantidad de enzimas y depleción indirecta de GSH, daño al ADN resultado en la activación de la enzima nuclear poli sintetasa, depleción del NAD y de ATP, lo cual condiciona daño celular irreversible en el choque séptico (44).

Es importante destacar que como elemento central de la red de mediadores inflamatorios durante el choque séptico, los O_2^- y/o el H_2O_2 contribuyen de forma importante a disfunción orgánica, esto ha sido demostrado en estudios experimentales que han demostrado que la hiporreactividad a norepinefrina exógena de los vasos se debe a su desactivación por el O_2^- , por lo tanto, la norepinefrina desactivada no es capaz de mantener la presión sanguínea (44). Por otro lado, estudios in vitro han demostrado que los antioxidantes naturales como la cisteína, GSH y el ácido ascórbico, son removedores del H_2O_2 e inhiben su capacidad oxidante. En choque séptico existe depleción del GSH en las células endoteliales y en las células del músculo liso después de la aplicación endógena o exógena de $ONOO^-$. En estudios recientes se ha informado que el GSH endógeno tiene un papel importante en disminuir y controlar la hiporreactividad vascular y la disfunción endotelial inducida por $ONOO^-$ durante el choque asociado a endotoxinas. Algunos estudios demuestran que la depleción de GSH endógeno incrementa los efectos citotóxicos del H_2O_2 y las ERO. Se conoce bien que el O_2^- interactúa con las catecolaminas (por lo que de alguna manera se consideran antioxidantes) convirtiéndolo en adrenocromos. Se considera que estos adrenocromos son mediadores específicos de citotoxicidad y daño celular, por lo que se han utilizado miméticos de la SOD para mejorar la respuesta a los vasopresores durante un estado de choque séptico (45).

Es evidente que la exposición de los pacientes en choque séptico a ERO producidos por una variedad de procesos fisiológicos y/o ambientales ha llevado a los organismos a desarrollar mecanismos de defensa de protección contra el EO inducido por ER, esto se

lleva a cabo a través de mecanismos preventivos de reparación, defensas físicas y defensas antioxidantes.

Existen diferentes enzimas antioxidantes, entre las que se encuentran la SOD, la GPx y CAT. También existen otros antioxidantes no enzimáticos como la Vit C, Vit E, GSH, carotenoides, flavonoides y otros. En condiciones normales, hay homeostasis entre las ERO y las defensas antioxidantes para que los organismos se encuentren en las condiciones necesarias para la supervivencia (46). Los antioxidantes en ciertas concentraciones retrasan o previenen significativamente la oxidación de sustratos oxidables como los lípidos, proteínas y el ADN, por lo tanto, regulan el daño oxidativo en sistemas biológicos y previenen para la formación de ERO por quelación antes de que éstas puedan reaccionar con otras biomoléculas antioxidantes. Por lo tanto, esta defensa puede ser tanto por compuestos endógenos producidos por el organismo o compuestos exógenos adquiridos en la dieta. Los antioxidantes inhiben o retardan la oxidación de dos formas: captando ROS, por lo que son conocidos como antioxidantes primarios; o por mecanismos que no estén relacionados con la captación de radicales libres (captación del O², unión a metales pesados, etc.) conocidos como como antioxidantes secundarios.

La terapia antioxidante en el choque séptico ha sido propuesta desde Hipócrates, quien utilizo la mirra (*Commiphora mukul*, *Commiphora myrrha*) (47) con fines medicinales terapéuticos y antiinflamatorios, actualmente se conoce que también tiene propiedades antioxidantes y es utilizada en diversos padecimientos (48).

Durante el choque séptico, existe incremento del gasto cardiaco con disminución de las resistencias vasculares sistémicas causada por dilatación arterial (49). La disminución excesiva o muy prolongada de las resistencias vasculares puede producir hipotensión resistente al uso de vasopresores lo cual puede contribuir a falla cardiaca grave (50). En

diferentes modelos experimentales y en humanos con choque séptico se ha descrito que la alta producción de óxido nítrico inducible (iON) y especies reactivas de nitrógeno (RNS) por diferentes vías pueden causar falla orgánica (pulmonar, cardíaca, neurológica y hepática) (51).

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 estrés oxidante (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.

El control inflamatorio, cardio metabólico y del estrés oxidante son esenciales, independientemente a la causa que origina el choque séptico.

Se

Por otra parte, el Se es un micronutriente esencial que tiene la función de ser un cofactor enzimático para más de 30 selenoproteínas. Estas proteínas tienen papel fundamental en el sistema de señalización redox el sistema de defensa antioxidante y en la respuesta inmune humoral y celular (52). La homeostasis del selenio está controlada a nivel renal, su absorción por vía intestinal no está regulada y su biodisponibilidad en el plasma normalmente es elevada. La ingesta diaria normal en adultos se estima que es de 50 a 100 µg/d con niveles tóxicos a partir de ingestas >350 µg/d (53). Aproximadamente 60% del selenio sérico se encuentra incorporado a la selenoproteína P (SePP), 30% unido a GPx, 5 a 10% unido a la albúmina y <1% se encuentra libre en el plasma. Los niveles plasmáticos de Se en adultos sanos van de 1.0 a 1.5 mmol/L (7.9 – 11.8 µg/dL) (54). Se ha demostrado que el síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS) y la FOM se asocian con niveles plasmáticos disminuidos de Se y GPx en pacientes críticamente enfermos (55) aún con niveles altos o bajos de Se no se puede asegurar el exceso o deficiencia de este (56). En el 2009 Forceville y cols determinaron que la SePP se une al endotelio bajo un ambiente favorecido de pH disminuido y que se encuentra disminuida en pacientes con SIRS (57). Tanto el SIRS como la FOM se caracterizan por depresión y redistribución del selenio condicionando disminución de la capacidad antioxidante endógena (58). No se ha logrado unificar los valores séricos de Se debido al bajo porcentaje en plasma y a su difícil medición a nivel intracelular (59).

Existen diversos factores que pueden contribuir a la disminución de los niveles de selenio en pacientes graves con choque séptico. En la sepsis, el selenio escapa al compartimiento intersticial a través de la fuga capilar, por otra parte, las pérdidas de líquidos, flebotomía, malnutrición y la terapia de reemplazo renal pueden contribuir a disminuir aún más los niveles de Se (60). La enfermedad crítica también se asocia a disminución de la actividad

de GPx y SePP. Otros factores como los fármacos (estatinas, corticosteroides y diuréticos), el tabaquismo, el alcoholismo, el virus de inmunodeficiencia humana, la desnutrición y la deshidratación también contribuyen a la disminución de las concentraciones de Se (61).

GSH

Por otra parte, el GSH proporciona $2H^+$ y $2e^-$ que reaccionan con la forma oxidada de la vitamina C (Vit C), por lo tanto, mantiene la Vit C en su forma reducida (62). Además, es importante considerar que la n-acetilcisteína (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. Tanto la CAT como la 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 (63).

MT

Se ha demostrado que la melatonina (MT) posee propiedades de secuestro de ROS, lo cual protege a los lípidos de la membrana celular, proteínas del citosol, el DNA nuclear y el mitocondrial (64,65) y esto se ha propuesto a través de estudios *in vitro* y *en vivo* que puede prevenir la lipoperoxidación (LPO) (66), preservar la permeabilidad de la membrana aumentando su fluidez (67) y reducir niveles de hidroperóxido en las mitocondrias restaurando la homeostasis del GSH y la función mitocondrial en los organelos bajo EO (68,69). También tiene la capacidad de estimular la γ -glutamylcisteína sintasa, por lo tanto, puede incrementar la síntesis intracelular de GSH (70). 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^2 por las

mitocondrias hepáticas, un efecto que puede proteger este órgano del daño oxidante excesivo (71,72).

NAC

La NAC es un antioxidante con propiedades altamente antiinflamatorias que se utiliza en el tratamiento principalmente de la intoxicación por acetaminofén, bronquitis crónica y fibrosis quística (73). El efecto antioxidante del NAC es a través de la reposición de los depósitos de GSH, además de funcionar como secuestrador de radicales libres de oxígeno (74). Independientemente de sus propiedades antioxidantes, también se ha demostrado importantes efectos antiinflamatorios (75) (76).

Vit C

La vitamina C (Vit C), es un antioxidante soluble en agua que funciona como cofactor para múltiples enzimas (77). 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 (78).

La Vit C inhibe la producción del O_2^- y $OONO^-$ 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 N) 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 tetrahydrobiopterina (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 (79).

Vit E

Sabemos que la vitamina E (Vit E) es el antioxidante lipofílico más importante en la membrana celular y que evita la LPO en esta (80). La deficiencia de Vit E también se ha encontrado en niños críticamente enfermos con sepsis lo cual contribuye su progresión hacia choque séptico. Los cambios fisiopatológicos en pacientes con sepsis están asociados con el EO además de la respuesta inflamatoria, este efecto está condicionado por la producción de ERO con consecuente alteración en los mecanismos de protección antioxidante, lo cual conlleva a falla orgánica y choque séptico. Esto justifica el papel terapéutico potencial de la terapia antioxidante y antiinflamatoria (81).

JUSTIFICACIÓN Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

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, el uso de catéteres de larga permanencia y la exposición ambiental súbita a infecciones diversas o en pandemias. 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 (82)

La relación de las ERO con daño endotelial y la inflamación tiene implicaciones clínicas. Las ERO son compuestos que se derivan de la molécula de O_2 por reducción química parcial. En este grupo se incluyen al H_2O_2 (producido cuando el O_2 es reducido con 2 electrones) y a las ERO, que abarcan a los O_2^- y al HO (83). Existen otras especies como RO $^-$, el ROO, el NO_2 , el hidroperóxido lípido (LOOH), el hidroperóxido proteína (POOH) e hipoclorito (ClO^-) (84). Las ERO participan en procesos fisiológicos, sin embargo, al mismo tiempo pueden ejercer efectos tóxicos. Estas son producidas como consecuencia del metabolismo, y por lo tanto, son esenciales para la producción de energía, síntesis de compuestos biológicamente esenciales y la fagocitosis (un proceso crítico para el sistema inmunológico además de su papel vital en la transducción de señales, implicado en la comunicación y función de las células) (84). En las últimas décadas, se ha demostrado en diversos padecimientos la participación de ERO, ya que estas interactúan con moléculas inflamatorias. La reacción del OH^- con lípidos insaturados es la cascada más conocida de daño inducido por radicales, aunque existen muchos ejemplos de daño a proteínas o al ADN. Por ejemplo, la reacción de ERO con proteínas puede llevar a la oxidación de cadenas laterales reactivas de aminoácidos, al entrecruzamiento de proteínas y desnaturalización de proteínas cercanas. La oxidación de ADN conlleva a ruptura de cadenas y liberación de bases oxidadas. Por lo tanto, existe una razón crucial del papel de los diversos antioxidantes para controlar o disminuir el EO y su repercusión, como un proceso crucial de contra regulación del daño producido por ERO.

Existe evidencia suficiente que demuestra que tanto los enfermos en estado crítico, como los pacientes sépticos, presentan marcado incremento de ROS combinado con disminución en las defensas antioxidantes endógenas (85). 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 prooxidantes 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 (86). Existen pocos estudios de que dan información detallada de las vías de daño causadas por el EO y como estas se modifican con la administración de terapia antioxidante específica.

En un ensayo clínico previo realizado por nuestro grupo de trabajo iniciamos la búsqueda de en la respuesta al tratamiento con antioxidantes y pudimos evaluar de forma general el comportamiento de la desregulación que existe en el choque séptico, encontramos que los pacientes con choque séptico que recibieron Vit C y MT mejoraron la disfunción orgánica (medida por el puntaje de SOFA) asociado a disminución de LPO y $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$. Sin embargo, no se evaluó la red enzimática antioxidante específica ni la participación del Se en cada uno de los grupos estudiados, estos resultados nos llevaron a complementar con la evaluación de la participación integral de cada antioxidante enzimático y no enzimático.

Con este estudio, pretendemos evaluar el efecto el sistema antioxidante enzimático y no enzimático de cuatro diferentes terapias en pacientes con choque séptico, además se determinarán niveles de tiones y del Se después de cada terapia antioxidante específica (Vit C, Vit E, NAC y MT). Del mismo modo, evaluamos la respuesta clínica al tratamiento midiendo el estado de disfunción orgánica en seis sistemas diferentes, utilizando el puntaje de SOFA y el estado de respuesta de los diversos biomarcadores del EO antes y después de la intervención terapéutica

Por lo tanto, el objetivo del presente estudio es evaluar el efecto de las cuatro diferentes terapias antioxidantes empleadas en cada una de las enzimas del sistema antioxidante y del Se (87).

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿La administración de terapia antioxidante específica mejorará el sistema de defensa antioxidante y disminuirá el EO, esto tendrá repercusión clínica en los pacientes con choque séptico?

OBJETIVOS ESPECÍFICOS DEL ESTUDIO

Objetivo general:

- Determinar el efecto de cuatro diferentes terapias antioxidantes sobre el sistema enzimático antioxidante, el sistema no enzimático y el Se, así como la repercusión clínica medido por SOFA en enfermos críticos con choque séptico comparado con un grupo sin tratamiento.

Objetivos particulares:

- Medir los niveles de Se en pacientes con choque séptico antes y después de recibir terapia antioxidante específica.
- Determinar el estado basal de dos selenoproteínas (TrxR y GPx) en pacientes con choque séptico mediante su medición en plasma previo al inicio de la terapia antioxidante.
- Evaluar el sistema enzimático antioxidante en pacientes con choque séptico (SOD, Px, GPx, GR, GST y TrxR) antes y después del tratamiento.

- Analizar el efecto clínico en cada uno de los apartados de disfunción orgánica evaluados con el puntaje de SOFA.
- Evaluar el cambio en el tiempo de la procalcitonina (PCT) y proteína c reactiva (PCR) en los diferentes grupos de tratamiento y compararlo con el grupo sin tratamiento.
- Mediremos el efecto en la vía inflamatoria antes y después de la terapia antioxidante en los diferentes grupos con la medición de IL-1 β , IL-2, IL4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p70, IL-17A, TNF- α , INF γ , IP-10, MCP-1 y TGF β -1

HIPÓTESIS

Hipótesis alternativa:

El sistema enzimático antioxidante, los niveles de Se y la disfunción orgánica mejorará después de la terapia antioxidante en los diferentes grupos con choque séptico.

Hipótesis nula:

El sistema enzimático antioxidante, los niveles de Se y la disfunción orgánica será similar antes y después de la terapia antioxidante en los diferentes grupos con choque séptico.

METODOLOGÍA

Tipo de Estudio

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

Ensayo clínico traslacional, aleatorizado y ciego.

Población de estudio

Descripción de la muestra

Pacientes mayores de 18 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 (27) 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 previo al cuadro de choque séptico.
- Cualquier contraindicación para el uso de Vit C, Vit E, NAC o MT.
- Mujeres embarazadas.

Criterios de eliminación

- Paciente que retire consentimiento informado.

Método de Muestreo

Se utilizará 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 %	α error	Poder estadístico	Tamaño de muestra	Muestra	Referencia
Vit C	0.01%	0.32%	0.05 0.01	0.84 0.99	28 70	?	¿Mejoría de SOFA?
Vit C	0.01%	0.50%	0.05 0.01	0.84 0.99	17 37	Ratón (Gulo)	(Fisher) Mortalidad
Vit C hidrocortisona y tiamina	8.5%	0.44%	0.05 0.01	0.84 0.99	30 71	Pacientes	(Marik) ¿Mejora falla renal?
Vit C IV	10.1± 2	13.3 ± 2.9	0.05 0.01	0.84 0.99	11 32	24 pacientes con sepsis	(Fowler) SOFA
Vit E	13± 2	24± 4	0.05 0.01	0.84 0.99	4 7	14 pacientes	(Durant) APACHE

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

Mortalidad: (88)

Mejoría en lesión renal: (89)

Cálculo de tamaño de muestra medias \pm DE independientes:

SOFA: (90)

APACHE: (91)

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, P_c a la proporción de acontecimientos de interés en el grupo control, P_e 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

μ_1 = media de grupo A

μ_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:

Por lo tanto, será necesario incluir 11 pacientes en cada grupo si se desea obtener 80% de posibilidad (80 % de poder) o 32 si el poder es de 99%, para detectar diferencia de medias de ≥ 3 en SOFA entre los grupos de tratamiento.

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

Se llevará a cabo una aleatorización electrónica por computadora de 125 pacientes en 6 bloques con 5 grupos de tratamiento, en total se colocará 25 pacientes en cada grupo. Una persona ajena al estudio colocará la terapia indicada en sobres opacos idénticos numerados del 1 al 125 y estos se colocarán en caja cerrada. Los sobres se tomarán de manera consecutiva con la terapia indicada. Ni el investigador, ni las personas relacionadas con el estudio o el tratamiento conocerán la terapia que le tocará a cada paciente.

Método de recogida de datos

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

Calcularemos 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 realizará la evaluación de SOFA todos los días por siete días.

Se tomarán estudios de laboratorio al ingreso a la UCI y todos los días de estancia los cuales incluirán 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 solicitarán a discreción de los médicos a cargo.

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

Se realizarán 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 tomarán 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 iniciará el tratamiento según el resultado obtenido de los sobres cerrados.

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

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

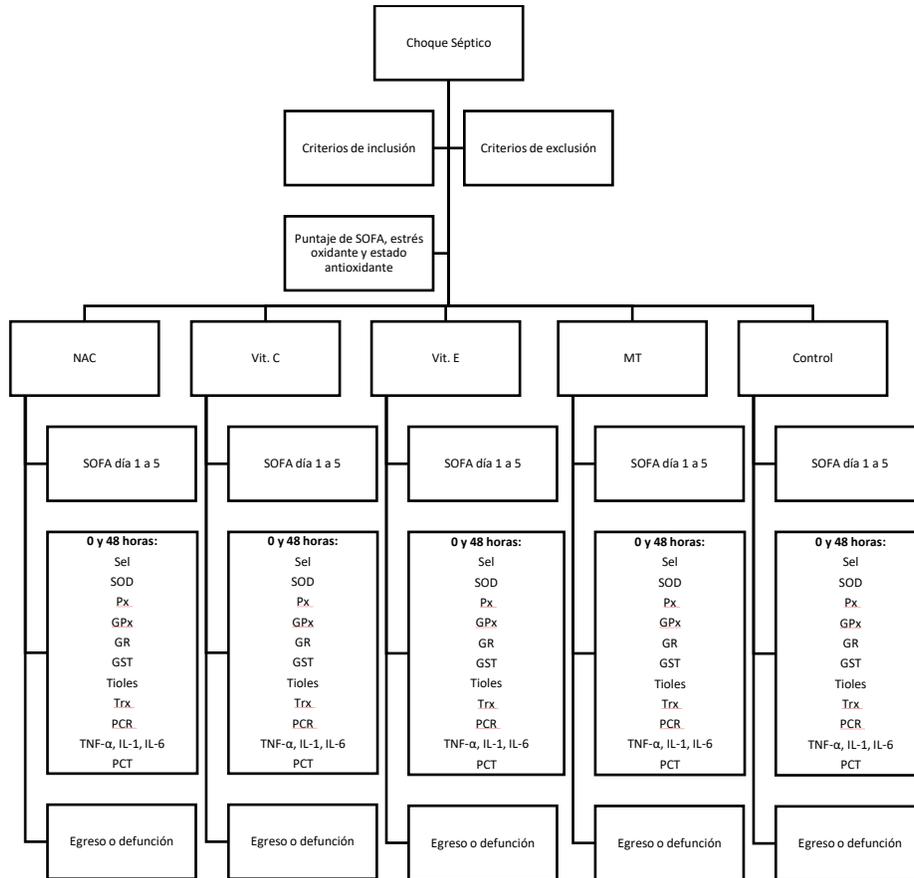
Para el grupo de Vit C se utilizarán tabletas de Vit C de 1 gramo las cuales se administrarán cada 6 horas por vía oral o sonda naso enteral por cinco días. En total se administrarán 20 dosis de Vit C.

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

Descripción del seguimiento de los pacientes

Se recolectarán los datos de los pacientes posterior a la aleatorización por 28 días. Se recolectarán las variables de interés la cuales incluirán signos vitales, variables hemodinámicas, estudios de laboratorio y cultivos. Se realizará la medición del SOFA score todos los días hasta el egreso de la UCI. La medición de metabolitos del ON se llevará a cabo antes del inicio del tratamiento al ingreso a la UCI y a los 5 días de tratamiento. Se recolectarán 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
Edad	Tiempo que ha transcurrido desde el nacimiento hasta el momento actual en años.	Cuantitativa discreta	Años
Género	Características biológicas que distinguen al hombre de la mujer dentro de un género.	Cualitativa Dicotómica	1) Mujer 2) Hombre
Peso	Peso de cada paciente al momento del estudio.	Cuantitativa continua	Kg
Talla	Estatura de cada paciente al momento del estudio.	Cuantitativa continua	Metros
IMC	Medida de asociación entre el peso y la talla de un individuo (Peso/Talla ²). Normal 20 a 25, sobrepeso 25 a 30, obesidad >30.	Cuantitativa continua	kg/m ²
Motivo de ingreso	Motivo de ingreso a la unidad de cuidados intensivos	Cualitativa nominal	a) Médico b) Cirugía electiva c) Cirugía de emergencia
Apache II	Método para predecir la mortalidad hospitalaria calculado al ingreso a la UCI	Cuantitativa continua	Puntaje
SAPS II	Método para predecir la mortalidad hospitalaria calculado al ingreso a la UCI	Cuantitativa discreta	Puntaje
NUTRIC	Método para evaluar el riesgo de desnutrición en pacientes ingresados a UCI e iniciar nutrición	Cuantitativa Discreta	Puntaje
SOFA score al ingreso y del día 0 al 5	Evaluación secuencial de la falla orgánica	Cuantitativa discreta	Puntaje
Enfermedad previa	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

Motivo de ingreso	Motivo de ingreso a la UCI	Cualitativa dicotómica	1) Quirúrgico 2) No quirúrgico
Sitio de ingreso	Lugar proveniente previo al ingreso a UCI	Cualitativa nominal	a) Urgencias b) Quirófano c) Hospitalización d) Otro
Diagnóstico de ingreso	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
Causa de infección	Causa de infección del paciente	Cualitativa nominal	a) Adquirida en la comunidad b) Intrahospitalaria c) Postquirúrgica
Sitio de Infección	Sitio donde se presenta el foco infeccioso	Cualitativa nominal	a) Pulmón b) Gastrointestinal c) Tracto urinario d) SNC e) Endocarditis f) Ginecológica g) Osea/Articulaciones h) Bacteriemia i) Otra j) Desconocida
Microrganismo	Microorganismo patógeno responsable de la enfermedad actual	Cualitativa nominal	Nombre del microorganismo responsable
Glasgow	Evaluación neurológica de la escala de coma de Glasgow	Cuantitativa discreta	Puntaje
Relación PaO2/FiO2	Relación entre la PaO2 en mmHg con la FiO2	Cuantitativa Continua	mmHg
Relación SpO2/FiO2	Relación entre la SpO2 con la FiO2	Cuantitativa Continua	Valor numérico
VMI	Requerimiento de ventilación mecánica invasiva	Cuantitativa dicotómica	1) Si 2) No
VMNI	Requerimiento de ventilación mecánica invasiva	Cuantitativa dicotómica	1) Si 2) No
Frecuencia cardíaca	Número de latidos cardiacos por minuto	Cuantitativa discreta	Latidos por minuto
Presión arterial media	Presión arterial sistólica multiplicada por dos más la presión arterial diastólica dividida entre tres	Cuantitativa discreta	mmHg
SVCO2	Saturación venosa central de oxígeno tomada con un	Cuantitativa Continua	%

	catéter en la vena cava o aurícula derecha		
PVC	Presión venosa central	Cuantitativa Continua	mmHg
Norepinefrina al ingreso	Dosis máxima de norepinefrina	Cuantitativa Continua	mcg/min
Vasopresina al ingreso	Dosis máxima de vasopresina	Cuantitativa Continua	UI/h
Dopamina al ingreso	Dosis máxima de dopamina	Cuantitativa Continua	mcg/kg/min
Dobutamina al ingreso	Dosis máxima de dobutamina	Cuantitativa Continua	mcg/kg/min
Levosimendan al ingreso	Dosis máxima de levosimendan	Cuantitativa Continua	mcg/kg/min
Nutrición antes de 48 horas	Inicio de nutrición en menos de 48 horas	Cualitativa dicotómica	1) Si 2) No
Nutrición enteral	Administración de nutrición vía enteral	Cualitativa dicotómica	1) Si 2) No
Nutrición parenteral	Administración de nutrición vía parenteral	Cualitativa dicotómica	1) Si 2) No
Glucosa	Niveles de glucosa en sangre al ingreso	Cuantitativa Continua	1) Si 2) No
Bilirrubina total al ingreso	Nivel de bilirrubina en suero	Cuantitativa Continua	mg/dl
Lesión renal aguda	Presento lesión renal aguda	Cualitativa dicotómica	1) Si 2) No
Estadio de lesión renal aguda	Estadio de lesión renal aguda según las guías de KDIGO	Cuantitativa discreta	1, 2 o 3
Creatinina al ingreso	Nivel de creatinina al ingreso	Cuantitativa Continua	mg/dl
Terapia de sustitución renal	Requirió terapia de sustitución renal	Cualitativa dicotómica	1) Si 2) No
Temperatura	Temperatura corporal al ingreso en grados centígrados	Cuantitativa Continua	°C
Leucocitosis al ingreso	Niveles de leucocitos en sangre	Cuantitativa Continua	10 ³ /μl
PCR al ingreso y del día 0 al 7	Niveles de proteína C reactiva en suero	Cuantitativa Continua	mg/dl
PCT al ingreso y del día 0 al 7	Niveles de procalcitonina en suero	Cuantitativa Continua	ng/ml
Plaquetas al ingreso	Niveles de plaquetas en sangre	Cuantitativa Continua	10 ³ /μl
Se antes y a las 48 horas de la terapia	Determinación de Se en plasma	Cuantitativa Continua	nM/mL de plasma
Tioles	Determinación de tioles en plasma	Cuantitativa Continua	nM/mL de plasma
Expresión de SOD antes y a las 48 horas de la terapia	Super oxido dismutasa	Cuantitativa Continua	U/mL de plasma
Expresión de Px antes y a las 48 horas de la terapia	Expresión de peroxidasa	Cuantitativa Continua	U/mL de plasma

Actividad de GPx antes y a las 48 horas de la terapia	Actividad de glutatión peroxidasa	Cuantitativa Continua	nmol NADPH oxidado/min/mL de plasma
Actividad de GST antes y a las 48 horas de la terapia	Actividad de glutatión S Transferasa	Cuantitativa Continua	nmol NADPH oxidado/min/mL de plasma
Actividad de GR antes y a las 48 horas de la terapia	Actividad de GR	Cuantitativa Continua	nmol NADPH oxidado/min/mL de plasma
Actividad Trx antes y a las 48 horas de la terapia	Actividad de TRX	Cuantitativa Continua	TNB nmol/min/mL de plasma
Días de ventilación mecánica invasiva	Número de días de ventilación mecánica invasiva	Cuantitativa discreta	Días
Días de estancia en la UTI	Número de días en la unidad de terapia intensiva	Cuantitativa discreta	Días
Días de estancia hospitalaria	Número de días de estancia en el hospital incluyendo los días de UTI	Cuantitativa discreta	Días
Defunción	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 obtendrán 20 ml de sangre de cada paciente ingresado al sorteo a su ingreso y a las 48 horas del tratamiento. Se llevará a cabo el siguiente proceso:

1. El personal de enfermería o el médico adscrito de terapia intensiva a cargo se comunicará vía telefónica a laboratorio clínico para la toma de muestras del protocolo de investigación. Se avisará si se trataba de la muestra pre (hora 0) o muestra post (48 horas).
2. Acudirá el personal de laboratorio a tomar 3 tubos Vacutainer para la obtención de suero (rojo o amarillo).
3. Se rotularán 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 entregarán en área de centrifugación.

5. Se centrifugarán a 3000 rpm por 20 min a 4 °C.
6. El plasma de las muestras se colocará en 3 o 4 alícuotas eppendorf de 1.5 mL, las cuales se encontrarán etiquetadas manualmente con las mismas indicaciones mencionadas anteriormente.
7. Se resguardarán en congelación en una gradilla rotulada con el nombre del protocolo de investigación.
8. Las muestras se transportarán en hielera con hielo seco al Instituto Nacional de Cardiología.

A. Determinación de Se

A 200 μ L plasma, se agregaron 500 μ l de mezcla acida (4:1 vol/vol de HNO_3 +HCl) más 500 μ l de H_2O_2 al 10% y se incubó a 120°C por 4 horas. Posteriormente se agregaron 100 μ l de H_2O destilada, 150 μ l de NaOH 0.5N, 200 μ l formaldehido 30%, 200 μ l de una mezcla de sulfuro sódico 0.5N y sulfito sódico 0.5N, 250 μ l EDTA 0.01M y 300 μ l de azul de toluidina. Se dejó incubar por 15 min a 25°C, al finalizar la incubación se centrifugó a 3500 rpm por 2 min y se leyó a 600 nm. La curva de calibración se realizará con selenito de sodio.

B. Expresión de Px

La medición de la expresión de Px se llevó a cabo por electroforesis en geles nativos de poliacrilamida al 10% como se describió previamente por Pérez-Torres y colaboradores (92). Para las actividades de las Px, se cargaron 35 μ l de peroxidasa de rábano picante a una concentración final de 178.5 μ g como estándar. Se agregaron 100 μ L de plasma a un gel de poliacrilamida al 10%, la electroforesis se llevó a cabo a 120 V por 4 horas y posteriormente, el gel se incubó en 2.45 mM de solución de NBT por 20 minutos. El líquido se desechó y posteriormente este se incubó en solución TEMED con 36 mM de fosfato potasio (pH 7.8) y 0.028 mM de riboflavina. El gel se expuso a una lámpara de luz UV

durante 10 minutos y se lavó con agua destilada para detener la reacción. Para observar la expresión de las Px el gel se lavó con agua en tres ocasiones durante 5 min, posteriormente se incubó con una mezcla de 0,003 mg/mL de 3,3,5,5-tetrametilbencidina disuelta en una solución de etanol: ácido acético: agua (1:1:1) con H₂O₂ por 10 min en la oscuridad. En estas condiciones, donde las Px están presentes, el gel permanece transparente y la 3,3,5,5-tetrametilbencidina es oxidada mostrando una coloración verde. Los geles para actividad de peroxidasa fueron analizados por densitometría con un sistema Kodak Image® 3.5, las actividades se calcularon siguiendo la técnica descrita para las isoformas SOD.

C. Actividad de GPx

La actividad de GPx se determinó por espectrofotometría. Para la actividad de GPx, se suspendieron 100 μ L de plasma en 1.6 mL de 50 mM de buffer de fosfato (pH 7.3), se agregaron 0.2 mM NADPH, 1 mM GSH y 1 UI/mL glutatión reductasa. La mezcla se incubó por 3 minutos a 37 °C, posteriormente 100 μ L de 0.25 mM H₂O₂ se agregaron para iniciar la reacción y la absorbancia se monitorizó por 7 minutos a 340 nm (93). La actividad se expresa en μ mol de NADPH oxidada/min/mL en plasma con un coeficiente de extinción de 6220M⁻¹ cm⁻¹ a 340 nm de NADPH.

D. Actividad de GST

La actividad de GST se determinó por espectrofotometría. Se agregaron 100 μ L de plasma a 700 μ L de buffer de fosfato (0.1 M, pH 6.5) con 100 μ L de GSH 0.1 mM y 100 μ L 1-chloro-2,4-dinitrobenzeno (CDNB) 0.1 mM. La muestra se incubó y monitorizó por 7 min a 37 °C y 340 nm. La actividad de GST se expresó en unidades I de GS-DNB μ mo/min/mL de plasma con un coeficiente de extinción de 14150 M⁻¹cm⁻¹ (94).

E. Expresión de SOD

La medición de la expresión de SOD se llevó a cabo por electroforesis en geles nativos de poliacrilamida al 10% como se describió previamente por Pérez-Torres y colaboradores (92). Se agregaron 100 μ L de plasma a un gel de poliacrilamida al 10%, la electroforesis se llevó a cabo a 120 V por 4 horas y posteriormente, el gel se incubó en 2.45 mM de solución de NBT por 20 minutos. El líquido se desechó y posteriormente este se incubó en solución TEMED con 36 mM de fosfato potasio (pH 7.8) y 0.028 mM de riboflavina. El gel se expuso a una lámpara de luz UV durante 10 minutos y se lavó con agua destilada para detener la reacción. Se obtuvo una curva estandarizada con una dilución seriada (2.5, 5, 10, 15, 30 y 60 ng) con SOD de eritrocitos bovinos (Sigma Chemical Co.). La actividad de SOD se calculó con la técnica descrita por Chen y Pan (95).

F. Actividad de TrxR

La actividad de la TrxR se evaluó como se describió previamente (96). 100 μ l de plasma suspendido en 3 ml de buffer de fosfato 0.1 mM (KH_2PO_4 , pH 7,0) se añadieron a NADPH 0.2 mM, MEDTA 1 mM y albúmina de suero bovino 0.1 mg/ml. La muestra se leyó en presencia de 20 μ l del inhibidor específico de TrxR (auranofina 10 μ M), y junto a un duplicado de la muestra sin el inhibidor se determinó indirectamente la cantidad de DTNB en presencia de NADPH para formar 2 moles de TNB. La oxidación de DTNB se monitorizó a 412 nm a 37°C por 6 min con un coeficiente de extinción de 13600 $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$ (97).

G. Tioles

Para la medición de tioles se tomaron 25 ml de suero al cual se agregó solución de KBH_4 (1 mg por cada medio ml de metanol y medio ml de agua tridestilada, relación 2:1:1), se mezcló en vortex por 15 segundos y se incubó 3 minutos. Se añadió una solución de formaldehído al 0.1% (0.2 ml en 200 ml de agua tridestilada más 7.6 mg de EDTA y 2.42 g

de Tris Base a concentración de 100 mM), se ajustó a pH 8.2 y se mezcló en vortex por 15 segundos e incubó por 3 minutos. Posteriormente, se agregó solución de DTNB a 4 mg por ml de metanol al 100% y se administró vortex por 15 segundos e incubó por 3 minutos. Para la lectura se realizó curva con GSSG 1 mg por ml de agua tridestilada (curva creciente a 0,5,10,20,40,80,160) y se utilizó un espectrofotometro a 415 nm.

H. Medición de IL-1 β , IL-2, IL4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p70, IL-17A, TNF- α , INF γ , IP-10, MCP-1 y TGF β -1

Se determinaron los niveles de IL-1 β , IL-2, IL4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p70, IL-17A, TNF- α , INF γ , IP-10, MCP-1 y TGF β -1 mediante Cytometric Bead Array, usando sistemas comerciales duoSet (R&D Systems; Minneapolis, MN) respetando las instrucciones proporcionadas por el fabricante.

ESTRATEGIA DE ANÁLISIS

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

La normalidad de las variables se evaluará mediante la prueba de Shapiro-Francia, ya que el tamaño de la muestra es mayor a 50. 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 analizarán 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 Wilcoxon, Kruskal-

Wallis o prueba de los rangos señalados de Wilcoxon, según el caso particular) se usarán para contrastar variables sin distribución gaussiana.

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

Para la comparación proporciones entre dos grupos se utilizó la prueba de Chi-cuadrada de Pearson χ^2 o prueba exacta de Fisher, dependiendo en número de muestras por casilla.

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

Para el análisis de sobrevida realizaremos tablas de vida y utilizaremos el método de Kaplan-Meier. Utilizaremos un análisis de Log Rank o M-H vs WilCox/Breslow cuando sea pertinente. Modelo de riesgos proporcionales de Cox para evaluar variables asociadas con mortalidad.

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.

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

PROBLEMAS ÉTICOS

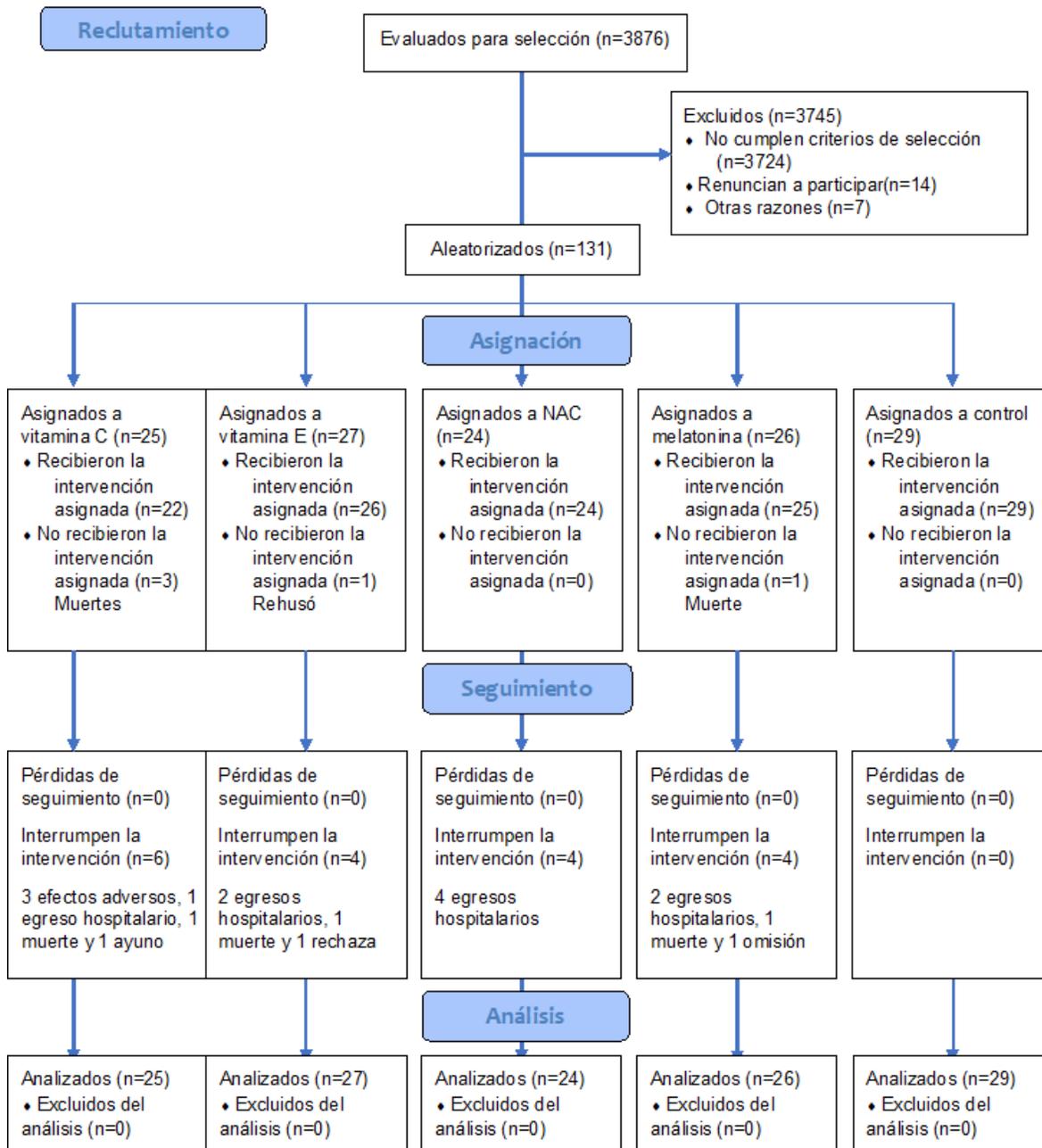
A todos los pacientes o a sus representantes legales se les explicará de manera detallada los objetivos del estudio, así como los procedimientos para realizar la medición de las variables, por lo que se solicitará consentimiento informado por escrito.

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

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

RESULTADOS

Diagrama de flujo del estudio



Cuadro 1. Características demográficas de los pacientes.

Características	n= 131
Edad, años*	69 (58-78)
Género	
Hombre, n (%)	61 (46.56)
Mujer, n (%)	70 (53.44)
Peso, (kg)*	70 (60–80)
Talla, (mt)*	1.68 (1.6-1.73)
IMC, (peso/talla ²) *	24.9 (21.8–28.4)
Diabetes Mellitus, n (%)	31 (23.66)
Hipertensión arterial, n (%)	56 (42.75)
EPOC, n (%)	12 (9.16)
Tabaquismo, n (%)	67 (51.15)
Cáncer, n (%)	47 (35.88)
Cirrosis, n (%)	10 (7.63)
Enfermedad renal crónica, n (%)	15 (11.45)
Hipotiroidismo, n (%)	23 (17.56)
Enfermedad vascular cerebral, n (%)	9 (6.87)
Infarto al miocardio, n (%)	8 (6.11)
Fibrilación auricular, n (%)	17 (12.98)
Depresión, n (%)	16 (12.21)
Trastorno obsesivo compulsivo, n (%)	2 (1.54)
Trombosis venosa profunda, n (%)	3 (2.29)
Tromboembolia pulmonar, n (%)	5 (3.82)

IMC: índice de masa corporal; EPOC: enfermedad pulmonar obstructiva crónica; *Los valores se expresan como mediana (p25 – p75)

Cuadro 2. Características demográficas de los pacientes.

Características	n=131
SAPS II	43.28 ± 16.91
APACHE II	17 (13–22)
SOFA*	8 (6–10)
NUTRIC*	4.43 ± 1.84
Motivo de ingreso	n=130
Quirúrgico, n (%)	35 (26.72)
No quirúrgico, n (%)	96 (73.28)
Sitio de Ingreso	n=130
Urgencias, n (%)	74 (56.92)
Quirófano, n (%)	22 (16.92)
Hospitalización, n (%)	31 (23.85)
Otro, n (%)	3 (2.31)
Diagnóstico de ingreso	n=130
Cardiovascular, n (%)	4 (3.08)
Respiratorio, n (%)	28 (21.54)
Gastrointestinal, n (%)	29 (22.31)
Neurológico, n (%)	7 (5.38)
Sepsis, n (%)	43 (33.08)
Trauma, n (%)	2 (1.54)
Metabólico, n (%)	3 (2.31)
Hematológico, n (%)	3 (2.31)
Renal/Genitourinario, n (%)	8 (6.15)
Otro, n (%)	2 (1.53)
Sitio de infección	n=129
Pulmonar, n (%)	48 (37.21)
Gastrointestinal, n (%)	39 (30.23)
Nefrourinario, n (%)	21 (16.28)
SNC, n (%)	3 (2.33)
Piel y tejidos blandos, n (%)	10 (7.75)
Endocarditis, n (%)	1 (0.78)
Gastrointestinal y nefrourinario, n (%)	4 (3.10)
Pulmonar y SNC, n (%)	1 (0.78)
Pulmonar y gastrointestinal, n (%)	1 (0.78)
Tiempo aleatorización, h	6 (4–12)
Muerte	24 (18.32)

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 (p25 – p75)

Cuadro 3. Características demográficas de los pacientes.

Características	n= 131
Temperatura, °C	36.3 (35.9-37.2)
FC, lpm	85.15 ± 21.18
PVC, mmHg	11 (7-13.5)
TAM, mmHg	74.45 ± 12.20
Menor cifra de TAM, mmHg	62.82 ± 10.87
PaO ₂ /FiO ₂ , mmHg	197 (142.4-263.5)
SaO ₂ /FiO ₂	227 (156–306)
Lactato, mmol/L	2.27 (1.4-3.36)
Bilirrubinas, mg/dL	1 (0.5-2.1)
Creatinina, mg/dL	1.09 (0.77-2.15)
Hemoglobina, g/dL	11.3 (9.8-13.7)
Leucocitos, 10 ³ /μL	10.95 (7.5-17.8)
PCT, ng/dL	3.54 (0.59-17.75)
PCR, mg/dL	20.16 (10.11–30.58)
Plaquetas, 10 ³ /μL	197.5 (126–296)
INR	1.19 (1.03-1.32)

FC: frecuencia cardiaca; PVC: presión venosa central; TAM: tensión arterial media; PaO₂: presión alveolar de oxígeno; FiO₂: fracción inspirada de oxígeno; SaO₂: saturación periférica de oxígeno; PCT: procalcitonina; PCR: proteína c reactiva; INR: international normalized ratio; Los valores se expresan como mediana (p25 – p75)

Cuadro 4. Características demográficas de los pacientes previo al inicio del tratamiento.	
Características	n= 131
Tratamiento esteroides, n (%)	53 (40.46)
Inicio nutrición, h*	15 (3-39)
Nutrición enteral, n (%)	112 (86.82)
Nutrición Parenteral, n (%)	32 (24.81)
Inotrópico, n (%)	27 (20.77)
Tipo de inotrópico	
Levosimendan, n (%)	20 (15.38)
Dopamina, n (%)	2 (1.54)
Dobutamina, n (%)	3 (2.31)
Vasopresores, n (%)	131 (100)
Tipo de vasopresor	
Norepinefrina, n (%)	73 (56.15)
Vasopresina, n (%)	1 (0.77)
Norepinefrina + vasopresina, n (%)	56 (43.08)
Antibiótico, n (%)	128 (98.46)
Antifúngico, n (%)	36 (27.69)
TSR, n (%)	10 (7.69)
PG, ml*	510 (230-750)
Ventilación mecánica, n (%)	83 (64.34)
Tipo de ventilación mecánica	
Invasiva, n (%)	64 (49.61)
No invasiva, n (%)	17 (13.18)
TSR: terapia de sustitución renal; PG: paquete globular; *Los valores se expresan como mediana (p25– p75)	

En cuanto a los desenlaces secundarios, 15 (11.45%) de los pacientes requirieron terapia de sustitución renal, 1 (0.76%) paciente requirió ECMO, 84 (64.12%) pacientes requirieron ventilación mecánica y 24 (18.32%) pacientes fallecieron. La mediana de días de terapia de sustitución renal fue de 0 (0 – 0), de días de ventilación mecánica 2 (0 – 6), de días de estancia en cuidados intensivos 6 (3 – 11) y de días de estancia hospitalaria 11 (7 – 20).

Cuadro 5. Características demográficas de los pacientes por grupo de tratamiento.						
Características	Vit C n= 25	Vit E n=27	NAC n=24	MT n=26	Sin tx n=29	P
Edad, años	62 (58-78)	70 (51-77)	68.5 (58.5-78)	62.5 (58-69)	75 (65-81)	0.10
Peso, kg	70 (65-80)	71 (60-82)	69.5 (56.5-80)	66 (60-78)	70 (61-80)	0.80
Talla,	1.65 (1.56-1.7)	1.7 (1.61-1.75)	1.7 (1.63-1.75)	1.67 (1.6-1.71)	1.66 (1.6-1.73)	0.39
IMC, peso/talla ²	24.9 (23-30.1)	24.6 (22.8-29)	23 (20.7-26.1)	25.35 (21.1-28.4)	25 (23.4-28.67)	0.41
Género Hombre, n (%) § Mujer, n (%) §	10 (40) 15 (60)	17 (62.96) 10 (37.04)	14 (58.33) 10(41.67)	13 (50) 13 (50)	16 (55.17) 13 (44.83)	0.53 §
SAPS II	39.44 ± 14.10	45.70 ± 16.37	42.41 ± 19.84	40.88 ± 16.80	47.20 ± 7.11	0.60 ¥
APACHE II	14 (12-19)	20 (15-24)	15.5 (11-20.5)	16.5 (10-21)	17 (15-25)	0.15
SOFA	8 (6-9)	9 (7-11)	8 (4-10)	8 (6-9)	9 (7-11)	0.42
NUTRIC	4.16 ± 2.21	4.81 ± 1.64	4.08 ± 1.83	3.88 ± 1.79	5.10 ± 1.54	0.41 ¥
Diabetes Mellitus, n (%) *	7 (28.00)	5 (18.52)	5 (20.83)	6 (23.08)	8 (27.59)	0.90 .
Hipertensión arterial, n (%) §	10 (40.00)	11 (40.74)	12 (50.00)	8 (30.77)	15 (51.72)	0.53 §
EPOC, n (%) *	1 (4.00)	5 (18.52)	4 (16.67)	2 (7.69)	0 (0.00)	0.05 .
Tabaquismo, n (%) *	17 (68.00)	12 (44.44)	9 (37.50)	15 (57.69)	14 (48.28)	0.22 §
Cáncer, n (%) *	6(24.00)	11 (40.74)	8 (33.33)	8 (30.77)	14 (48.28)	0.39 §
Cirrosis, n (%) *	2 (8.00)	2 (7.41)	1 (4.17)	1 (3.85)	4 (13.79)	0.71 .
Enfermedad renal crónica, n (%) *	2 (8.00)	3 (11.11)	4 (16.67)	3 (11.54)	3 (10.34)	0.92 .
Hipotiroidismo, n (%) *	4 (16.00)	4 (14.81)	2 (8.33)	6 (23.08)	7 (24.14)	0.56 .
Enfermedad vascular cerebral, n (%) *	3 (12.00)	0 (0.00)	1 (4.17)	2 (7.69)	3 (10.34)	0.41 .
Infarto al miocardio, n (%) *	1 (4.00)	0 (0.00)	3 (12.50)	2 (7.69)	2 (6.90)	0.43 .
Fibrilación auricular, n (%) *	3 (12.00)	2 (7.41)	3 (12.50)	5 (19.23)	4 (13.79)	0.79 .
Trastorno obsesivo compulsivo, n (%) *	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)	2 (7.69)	0 (0.00)	0.10 .

Trombosis venosa profunda, n (%) [*]	0 (0.00)	0 (0.00)	1 (4.17)	0 (0.00)	2 (6.90)	0.39 [*]
Tromboembolia pulmonar, n (%) [*]	0 (0.00)	0 (0.00)	2 (8.33)	1 (3.85)	2 (6.90)	0.42 [*]

Vit C: vitamina C; Vit E: vitamina E; NAC: n-acetilcisteína; MT: melatonina; TX: tratamiento. IMC: índice de masa corporal; EPOC: enfermedad pulmonar obstructiva crónica; Los valores se expresan como mediana (p25 – p75); Estadístico de prueba: Kruskal- Wallis, [‡]ANOVA de una vía, [§]prueba chi2 y ^{*}prueba exacta de Fisher.

Cuadro 6. Características demográficas de los pacientes por grupo de tratamiento.						
Características	Vit C n= 25	Vit E n=27	NAC n=24	MT n=26	Sin tx n=29	P
Motivo de ingreso						
Quirúrgico, n (%)	7 (28.00)	6 (22.22)	5 (20.83)	4 (15.38)	13 (44.83)	0.14
No quirúrgico, n (%)	18 (72.00)	21 (77.78)	19 (79.17)	22 (84.62)	16 (55.17)	
Sitio de Ingreso						
Urgencias, n (%)	14 (58.33)	15 (55.56)	13 (54.17)	18 (69.23)	14 (48.28)	0.76
Quirófano, n (%)	4 (16.67)	5 (18.52)	3 (12.50)	3 (11.54)	7 (24.14)	
Hospitalización, n (%)	4 (16.67)	7 (25.93)	8 (33.33)	5 (19.23)	7 (24.14)	
Otro, n (%)	2 (8.33)	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)	1 (3.45)	
Diagnóstico de ingreso						
Cardiovascular, n (%)	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)	2 (7.69)	2 (6.90)	0.82
Respiratorio, n (%)	6 (25.00)	6 (22.22)	7 (29.17)	4 (15.38)	5 (17.24)	
Gastrointestinal, n (%)	9 (37.50)	5 (18.52)	4 (16.67)	5 (19.23)	6 (20.69)	
Neurológico, n (%)	1 (4.17)	1 (3.70)	1 (4.17)	2 (7.69)	2 (6.90)	
Sepsis, n (%)	6 (25.00)	9 (33.33)	7 (29.17)	9 (34.62)	12 (41.38)	
Trauma, n (%)	0 (0.00)	1 (3.70)	1 (4.17)	0 (0.00)	0 (0.00)	
Metabólico, n (%)	1 (4.17)	1 (3.70)	0 (0.00)	0 (0.00)	1 (3.45)	
Hematológico, n (%)	0 (0.00)	1 (3.70)	0 (0.00)	1 (3.85)	1 (3.45)	
Renal/Genitourinario, n (%)	0 (0.00)	2 (7.41)	3 (12.50)	3 (11.54)	0 (0.00)	
Otro, n (%)	0 (0.00)	1 (3.70)	1 (4.17)	0 (0.00)	0 (0.00)	
Sitio de infección						
Pulmonar, n (%)	7 (29.17)	11 (40.74)	9 (39.13)	11 (42.31)	10 (34.48)	0.83
Gastrointestinal, n (%)	10 (41.67)	8 (29.63)	5 (21.74)	5 (19.23)	11 (37.93)	
Nefrourinario, n (%)	3 (12.50)	3 (11.11)	6 (26.09)	6 (23.08)	3 (10.34)	
SNC, n (%)	0 (0.00)	2 (7.41)	0 (0.00)	0 (0.00)	1 (3.45)	
Piel y tejidos blandos, n (%)	2 (8.33)	2 (7.41)	2 (8.70)	2 (7.69)	2 (6.90)	
Endocarditis, n (%)	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)	1 (3.45)	
Gastrointestinal y nefrourinario, n (%)	0 (0.00)	1 (3.70)	0 (0.00)	2 (7.69)	1 (3.45)	
	1 (4.17)	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)	

Pulmonar y SNC, n (%)	0 (0.00)	0 (0.00)	1 (4.35)	0 (0.00)	0 (0.00)	
Pulmonar y gastrointestinal, n (%)	1 (4.17)	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)	
Pulmonar y nefrouinario, n (%)						

Vit C: vitamina C; Vit E: vitamina E; NAC: n-acetilcisteína; MT: melatonina; Tx: tratamiento SNC: sistema nervioso central; Estadístico de prueba: prueba exacta de Fisher.

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

Características	Vit C n= 25	Vit E n=27	NAC n=24	MT n=26	Sin tx n=29	P
Tiempo aleatorización, h	18 (3-40)	26 (12-48)	16 (13-53.5)	19 (15-30)	12 (4-36)	0.36
Temperatura, °C	36.4 (36-37)	36 (36-36.7)	36.45 (36-37.65)	36.5 (35.7-37.4)	36 (35.6-37)	0.34
FC, lpm	83 (68-94)	85 (66-108)	86 (66-97)	85.5 (67-100)	83 (74-104)	0.98
PVC, mmHg	11.5 (6.5-14)	9 (6-12)	12 (7-13)	9 (7-13)	13 (9-17)	0.15
TAM, mmHg	73 (63-83)	77 (73-81)	78 (68.5-85)	73 (65-81)	78 (65-82)	0.52
Mínima TAM, mmHg	63 (54-72)	68 (61-75)	62.5 (54.5-67.5)	61 (55-72)	61 (54-68)	0.11
PaO ₂ /FiO ₂ , mmHg	196 (129-309)	239.5 (120-266)	239 (140.8-300)	197 (115-242)	190 (150-250)	0.97
SaO ₂ /FiO ₂	296.5 (211-320)	166 (150-300)	271.5 (155.5-325.5)	211 (156-285)	224.5 (163-272.5)	0.13
Lactato, mmol/L	1.37 (1.09-2.4)	2.43 (1.45-3.7)	2.02 (1.4-3.2)	2.32 (1.49-4.6)	2.63 (2.08-4.05)	0.01
Bilirrubinas, mg/dl	0.75 (0.42-1.10)	1.20 (0.6-2.2)	0.9 (0.46-1.9)	1.02 (0.5-1.8)	1.1 (0.7-2.3)	0.27
Creatinina, mg/dl	0.95 (0.8-2.18)	1.21 (0.62-2.95)	0.92 (0.7-1.86)	1.02 (0.79-2.12)	1.2 (0.77-1.6)	0.93
Hemoglobina, g/Dl	11.7 (9.7-14.1)	11.3 (9.6-14.7)	10.65 (9.65-11.45)	10.85 (9.8-12.7)	12 (10.3-14)	0.21
Leucocitos, 10 ³ /μL	10.92 (7.72-18.95)	9.6 (6.68-16)	8.9 (7.52-13.7)	12.9 (9.7-20.31)	14.22 (6.7-20.7)	0.35
PCT, ng/Dl	1.24 (0.59-30.21)	4.03 (0.5-40.42)	1.26 (0.3-9.52)	2.85 (1.04-8.49)	7.68 (1.4-32.3)	0.33
PCR, mg/Dl	19.55 (11.34-30.65)	25.24 (11.65-32)	11.61 (7.70-22.96)	21.75 (10.31-28.77)	22.99 (11.29-33.06)	0.38

Plaquetas, 10 ³ /μL	241 (186- 294.5)	166 (82- 258)	160.5 (109.5- 215)	244.5 (161- 443)	212 (131- 297)	0.01
INR	1.23 (1.03- 1.33)	1.20 (1.09- 1.31)	1.19 (1-1.34)	1.1 (0.99- 1.22)	1.2 (1.11- 1.36)	0.50

Vit C: vitamina C; Vit E: vitamina E; NAC: n-acetilcisteína; MT: melatonina; FC: frecuencia cardiaca; PVC: presión venosa central; TAM: tensión arterial media; PaO2: presión alveolar de oxígeno; FiO2: fracción inspirada de oxígeno; SaO2: saturación periférica de oxígeno; PCT: procalcitonina; PCR: proteína c reactiva; INR: international normalized ratio; Estadístico de prueba: Kruskal-Wallis. Los valores se expresan como mediana (p25 – p75)

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

Características	Vit C n= 25	Vit E n=27	NAC n=24	MT n=26	Sin tx n=29	P
Tratamiento esteroides, n(%)	6 (24.00)	16 (59.26)	9 (37.50)	8 (30.77)	14 (48.28)	0.07
Nutrición enteral, n(%)	21 (87.50)	23 (85.19)	21 (87.50)	24 (96.00)	23 (79.31)	0.50*
Nutrición parenteral, n(%) *	4 (16.67)	7 (25.93)	7 (29.17)	5 (20.00)	9 (31.03)	0.73
Inotrópico, n(%)*	2 (8.33)	7 (25.93)	3 (12.50)	5 (19.23)	10 (34.48)	0.14*
Tipo de inotrópico						
Dobutamina, n(%)	1 (4.17)	1 (3.70)	0 (0.00)	0 (0.00)	1 (3.45)	
Levosimendan, n(%)*	0 (0.00)	6 (22.22)	2 (8.33)	4 (15.38)	8 (27.59)	0.06*
Dopamina, n(%)*	1 (4.17)	0 (0.00)	0 (0.00)	1 (3.85)	0 (0.00)	
Tipo de vasopresor						
Norepinefrina, n(%)*	16 (66.67)	11 (40.74)	16 (66.67)	13 (50.00)	17 (58.62)	
Vasopresina, n(%)*	0 (0.00)	1 (3.70)	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)	0.34*
Norepinefrina + vasopresina, n(%)*	8 (33.33)	15 (55.56)	8 (33.33)	13 (50.00)	12 (41.38)	
Antifúngico, n(%)*	6 (25.00)	6 (22.22)	7 (29.17)	6 (23.08)	11 (37.93)	0.70
TSR, n(%)*	1 (4.17)	3 (11.11)	2 (8.33)	1 (3.85)	3 (10.34)	0.80*
Ventilación mecánica, n(%)*	13 (54.17)	15 (55.56)	16 (69.57)	16 (61.54)	23 (79.31)	0.26
Tipo de ventilación mecánica						
Invasiva, n(%)*	12 (50.00)	12 (44.44)	11 (47.83)	10 (38.46)	19 (65.52)	
No invasiva, n(%)*	1 (4.17)	4 (14.81)	5 (21.74)	5 (19.23)	2 (6.90)	0.39*

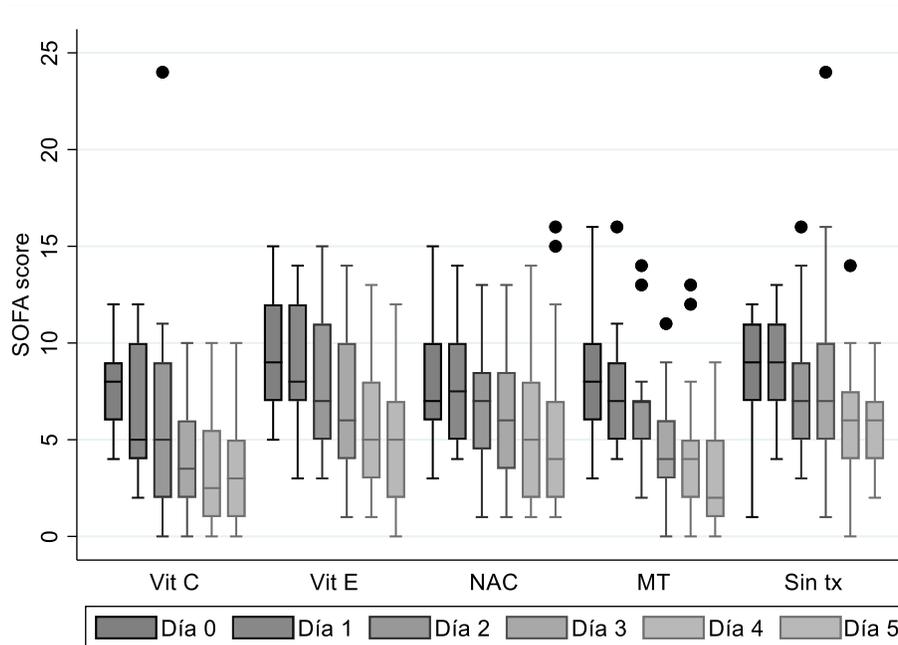
Vit C: vitamina C; Vit E: vitamina E; NAC: n-acetilcisteína; MT: melatonina; Tx: tratamiento. TSR: terapia de sustitución renal; Estadístico de prueba: chi2 y prueba exacta de Fisher*.

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

Características	Vit C n=25	Vit E n=27	NAC n=24	MT n=26	Sin tx n=29	P
Inicio nutrición, h	12 (1-31)	24 (7-41)	12.5 (4.5-29.5)	3 (1-32)	22 (13-46)	0.07
PG, mL	230	971	525 (375-650)	635 (250-2750)	166.65 (41.65-1000)	0.58
Tiempo de aleatorización al inicio del tratamiento, h	5.5 (4-10)	6.5 (5-12)	4 (2.25-12)	9 (7-12)	NA	0.125
Dosis administrada, mg	20 (20-60)	6000 (5600-6000)	12000 (11400-12000)	250 (200-250)	-	NA
Tiempo de tratamiento, días	5 (4-5)	5	5	5		0.21
Apego al tratamiento, %	1 (0.87-1)	1	1	1		0.72

Vit C: vitamina C; Vit E: vitamina E; NAC: n-acetilcisteína; MT: melatonina; Tx: tratamiento. 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; Estadístico de prueba: Kruskal-Wallis y prueba exacta de Fisher*. Los valores se expresan como mediana (p25 – p75)

Gráfico 1. Gráfico de los puntajes de SOFA de los diferentes grupos de tratamiento por día



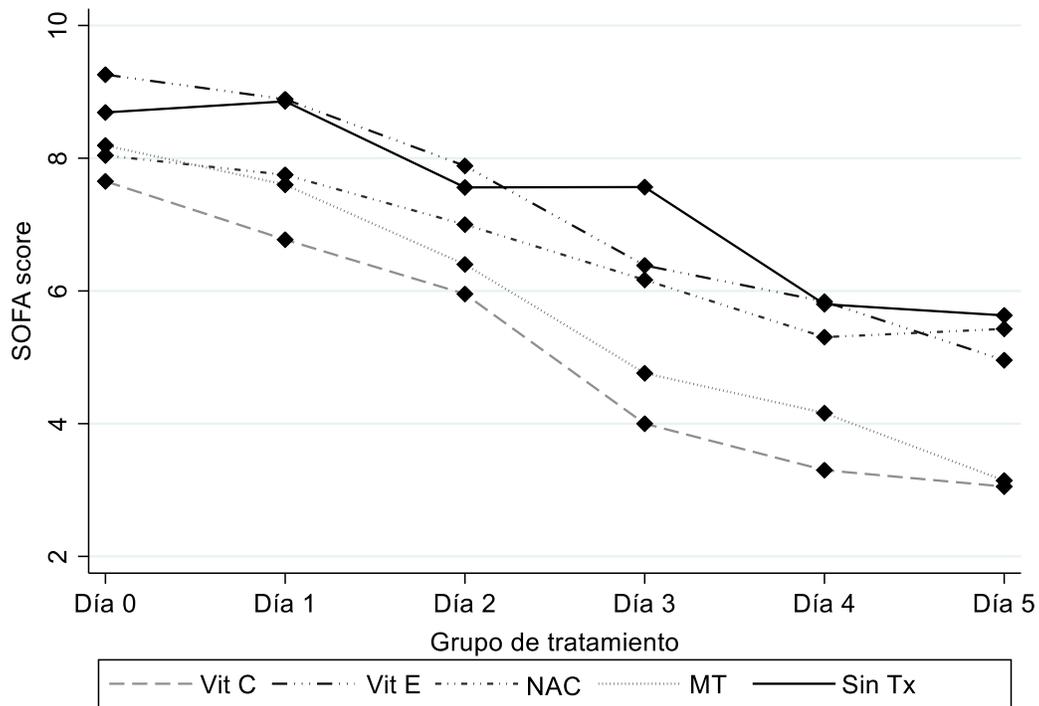
SOFA: sequential organ failure assessment; Vit C: vitamina C; Vit E: vitamina E; NAC: n-acetilcisteína; MT: melatonina.

Cuadro 10. Comparativo de los puntajes de SOFA entre los grupos de tratamiento.

SOFA	Vit C n= 25	Vit E n=27	NAC n=24	MT n=26	Sin tx n=29	<i>p</i>
Día 0	8 (6 – 9)	9 (7 – 12)	7 (6 -10)	8 (6 – 10)	9 (7 – 11)	0.287
Día 1	5 (4 -10)	8 (7 – 12)	7.5 (5 – 10)	7 (5 – 9)	9 (7 – 11)	0.053
Día 2	2 (2 – 9)	7 (5 – 11)	7 (4.5 – 8.5)	7 (5 – 7)	7 (5 – 9)	0.179
Día 3	3.5 (2 – 6)	6 (4 – 10)	6 (3.5 – 8.5)	4 (3 – 6)	7 (5 – 10)	0.023
Día 4	2.5 (1 – 5.5)	5 (3 – 8)	5 (2 – 8)	4 (2 - 5)	6 (4 – 7.5)	0.044
Día 5	3 (1 – 5)	5 (2 – 7)	4 (2 – 7)	2 (1 – 5)	6 (4 – 7)	0.011

Vit C: vitamina C; Vit E: vitamina E; NAC: n-acetilcisteína; MT: melatonina; Tx: tratamiento. SOFA: sequential organ failure assessment; Los valores se expresan como mediana (p25 – p75); Estadístico de prueba: ANOVA de una vía.

Gráfico 2. Puntaje de SOFA por grupo de tratamiento a través del tiempo



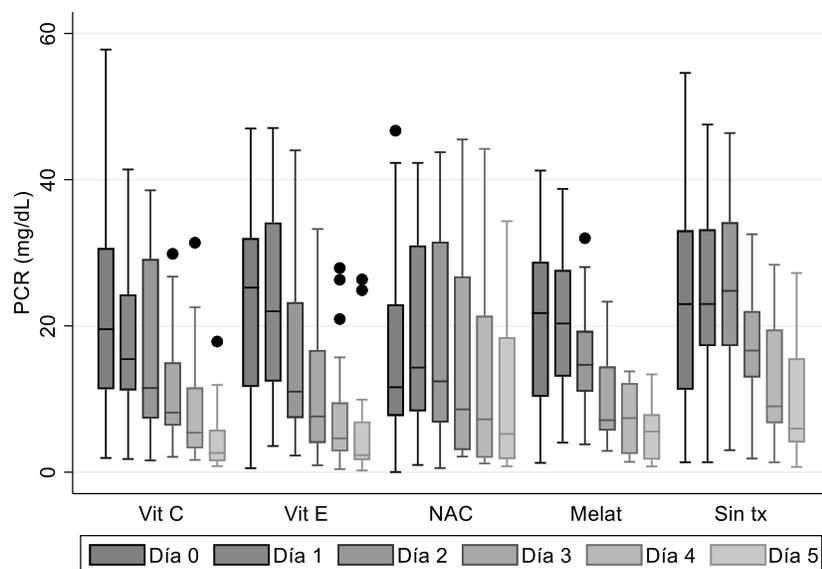
SOFA: sequential organ failure assessment; Vit C: vitamina C; Vit E: vitamina E; NAC: n-acetilcisteína; MT: melatonina.

Análisis de medidas repetidas del cambio en el puntaje del SOFA en el tiempo por grupo de tratamiento: modelo de aproximación marginal.

Grupo	Coefficiente de regresión	EE	[IC 95%]	p
Vit C	-2.303	0.430	[-3.14 a -1.4]	<0.001
Vit E	-0.262	0.409	[-1.06 a 0.54]	0.522
NAC	-0.891	0.419	[-1.71 a -0.06]	0.033
MT	-1.745	0.414	[-2.55 a -0.93]	<0.001
Sin tx	0	(base)		

IC: intervalo de confianza; EE: error estándar.

Gráfico 3. Gráfico de cajas y bigotes de los niveles de PCR por grupo de tratamiento a través del tiempo o



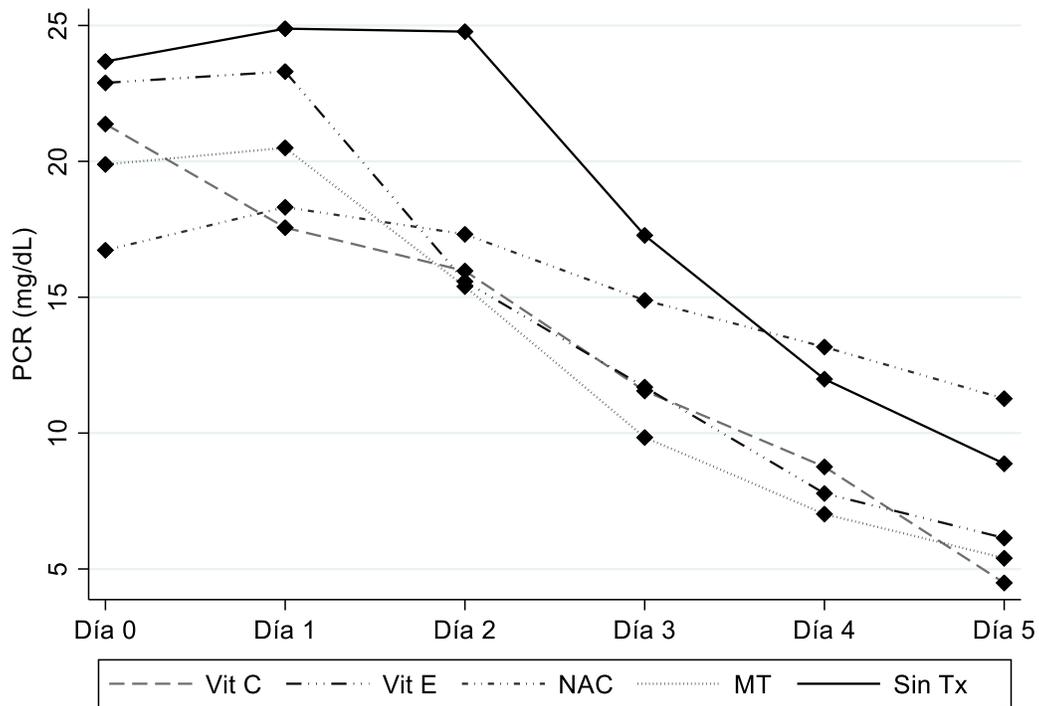
PCR: proteína c reactiva; Vit C: vitamina C; Vit E: vitamina E; NAC: n-acetilcisteína; MT: melatonina. Tx: tratamiento

Cuadro 11. Comparativo de los niveles de PCR entre los grupos de tratamiento.

PCR	Vit C n= 25	Vit E n=27	NAC n=24	MT n=26	Sin tx n=29	p
Día 0	19.55 (11.34 – 30.65)	25.24 (11.65 – 32)	11.61 (7.70 – 22.96)	21.75 (10.31 – 28.77)	22.99 (11.29 – 33.06)	0.382
Día 1	15.46 (11.20 – 24.31)	22.01 (12.40 – 34.15)	14.30 (8.33 – 31.01)	20.33 (13.07 – 27.65)	23 (17.24 – 33.2)	0.061
Día 2	11.50 (7.34 – 29.15)	11.01 (7.42 – 23.26)	12.42 (6.8 – 31.52)	14.68 (11. – 19.31)	24.8 (17.25 – 34.18)	0.040
Día 3	8.15 (6.36 – 15.02)	7.61 (4 – 16.72)	8.58 (3.04 – 26.78)	7.11 (5.68 – 14.45)	16.63 (12.95 – 22.05)	0.109
Día 4	5.39 (3.26 – 11.58)	4.62 (2.84 – 9.52)	7.23 (1.96 – 21.39)	7.39 (2.49 – 12.19)	9 (6.71 – 19.51)	0.191
Día 5	2.63 (1.51 – 5.8)	2.33 (1.66 – 6.95)	5.23 (1.79 – 18.47)	5.56 (1.70 – 7.91)	5.96 (4.05 – 15.57)	0.352

PCR: proteína c reactiva; Vit C: vitamina C; Vit E: vitamina E; NAC: n-acetilcisteína; MT: melatonina; Tx: tratamiento. med: mediana; min: mínimo; max: máximo. Estadístico de prueba: Kruskal-Wallis. Los valores se expresan como mediana (p25 – p75)

Gráfico 4. Gráfico de los niveles de PCR por grupo de tratamiento a través del tiempo



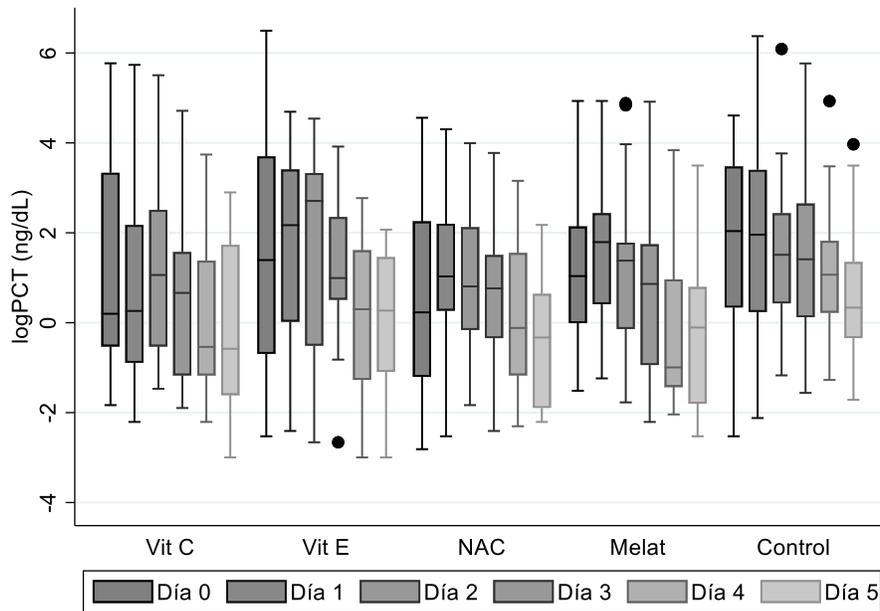
PCR: proteína c reactiva; Vit C: vitamina C; Vit E: vitamina E; NAC: n-acetilcisteína; MT: melatonina. Tx: tratamiento

Análisis de medidas repetidas del cambio en el puntaje de PCR en el tiempo por grupo de tratamiento: modelo de aproximación marginal.

Grupo	Coefficiente de regresión	EE	[IC 95%]	<i>p</i>
Vit C	-5.44	1.54	[-8.47 a -2.42]	<0.001
Vit E	-4.09	1.48	[-7.00 a -1.18]	0.006
NAC	-3.84	1.53	[-6.85 a -0.82]	0.012
MT	-5.55	1.53	[-8.55 a -2.55]	0.000
Sin tx	0	(base)		

PCR: proteína c reactiva; IC: intervalo de confianza; EE: error estándar.

Gráfico 5. Gráfico de los niveles de PCT (log) de los diferentes grupos de tratamiento por día



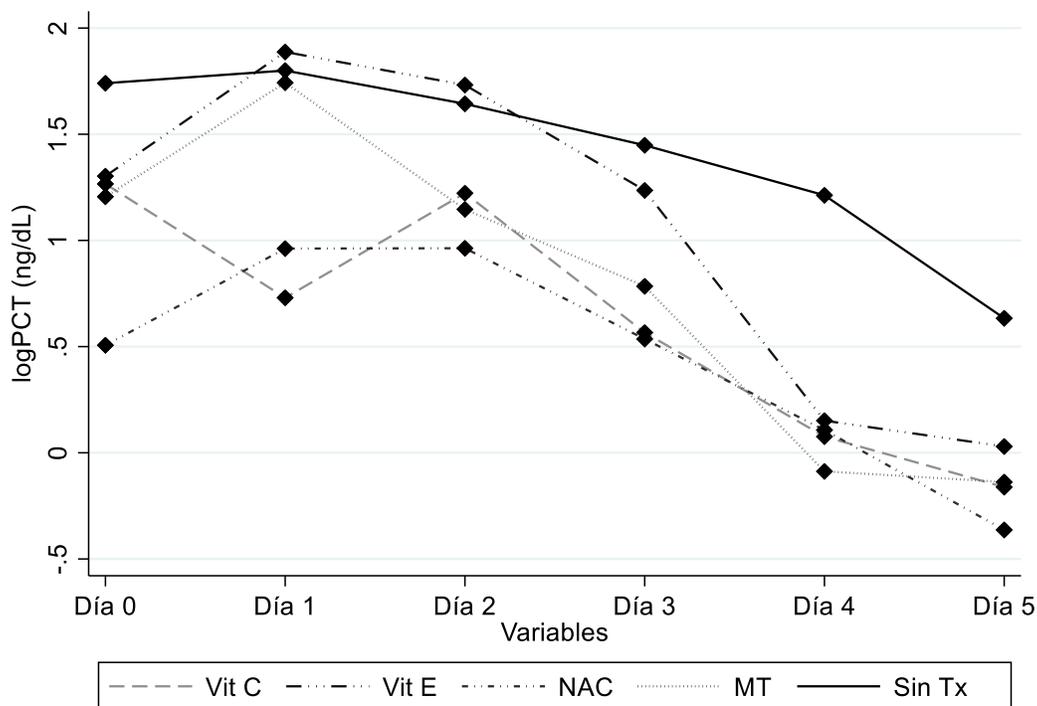
PCT: procalcitonina; Vit C: vitamina C; Vit E: vitamina E; NAC: n-acetilcisteína; Melat: melatonina. Tx: tratamiento.

Cuadro 12. Comparativo de los niveles de log PCT entre los grupos de tratamiento.

PCT	Vit C n= 25	Vit E n=27	NAC n=24	MT n=26	Sin tx n=29	<i>p</i>
Día 0	1.26 ± 2.33	1.30 ± 2.40	0.50 ± 2.11	1.20 ± 1.81	1.74 ± 1.92	0.582
Día 1	0.73 ± 2.21	1.88 ± 2.03	0.96 ± 1.73	1.74 ± 1.72	1.80 ± 2.04	0.757
Día 2	1.22 ± 2.11	1.73 ± 2.27	0.96 ± 1.73	1.14 ± 1.85	1.64 ± 1.76	0.600
Día 3	0.56 ± 2.01	1.23 ± 1.72	0.53 ± 1.58	0.78 ± 2.03	1.44 ± 1.75	0.875
Día 4	0.07 ± 1.87	0.15 ± 1.83	0.10 ± 1.63	-0.08 ± 1.98	1.21 ± 1.61	0.931
Día 5	-0.16 ± 1.97	0.02 ± 1.65	-0.36 ± 1.47	-0.13 ± 1.87	0.63 ± 1.56	0.851

PCT: procalcitonina; Vit C: vitamina C; Vit E: vitamina E; NAC: n-acetilcisteína; MT: melatonina; Los valores se expresan como media ± DE. Estadístico de prueba: ANOVA de un factor.

Gráfico 6. 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; MT: melatonina. Tx: tratamiento.

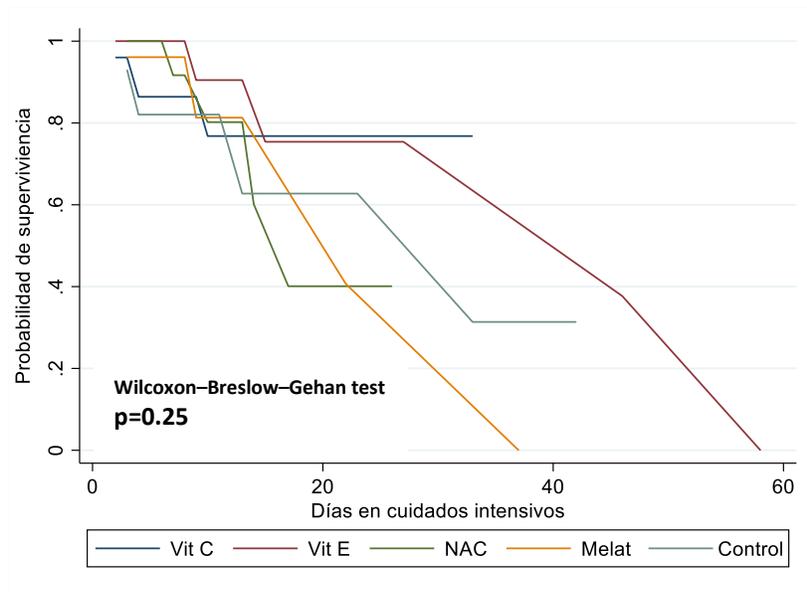
Análisis de medidas repetidas del cambio en el puntaje de log PCT en el tiempo por grupo de tratamiento: modelo de aproximación marginal.

Grupo	Coefficiente de regresión	EE	[IC 95%]	P
Vit C	-0.72	0.243	[-1.20 a -0.24]	0.003
Vit E	-0.33	0.240	[-0.80 a 0.13]	0.162
NAC	-0.85	0.243	[-1.33 a -0.38]	<0.001
MT	-0.55	0.241	[-1.02 a -0.07]	0.023
Sin tx	0	(base)		

PCT: procalcitonina; IC: intervalo de confianza; EE: error estándar.

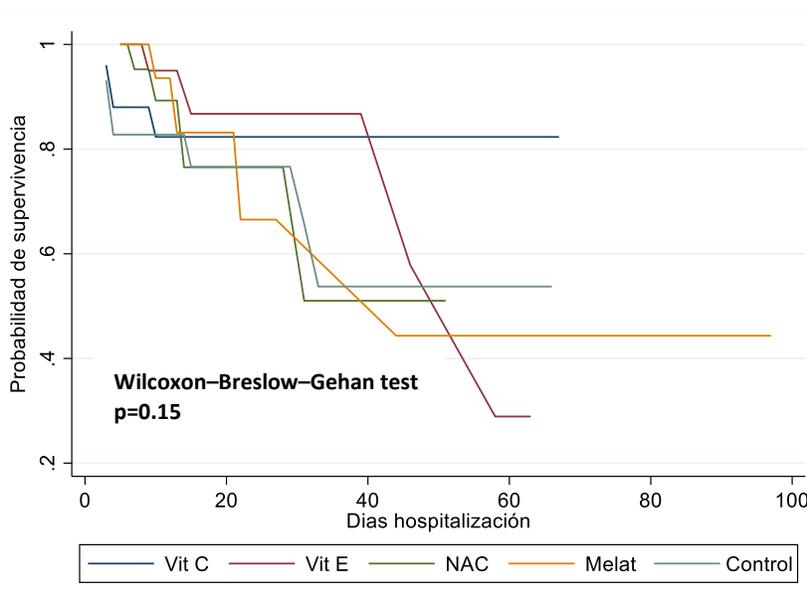
Cuadro 13. Desenlaces secundarios por grupo de tratamiento						
Características	Vit C n= 25	Vit E n=27	NAC n=24	MT n=26	Sin tx n=29	P
Terapia sustitución renal, n (%)	1 (4.00)	3 (11.11)	3 (12.50)	3 (11.54)	5 (17.24)	0.67
Días TSR	0	0	0	0	0	0.58
Días libres TSR a 28 días	28	28	28	28	28	0.58
Ventilación mecánica, n (%)	14 (56.00)	17 (62.96)	16(66.67)	16 (61.54)	21 (72.41)	0.78
Días ventilación	2 (0-4)	3 (0-6)	3 (0-6.5)	2 (0-5)	2.5 (0.5-6)	0.76
Días libres VM a 28 días	26 (24-28)	25 (22-28)	25 (21.5-28)	26 (23-28)	25.5 (22-27.5)	0.76
Días UCI	4 (3-10)	6 (4-12)	6 (4.5-10)	5.5 (3-8)	6 (4-12)	0.84
Días libres UCI a 28 días	24 (18-25)	22 (16-24)	22 (18-23.5)	22.5 (20-25)	22 (16.24)	0.84
Días hospitalización	10.5 (6.5-21.5)	12 (7-20)	10.5 (8-17)	9.5 (8-19)	13 (4-28)	0.99
Días libres de hospitalización a 28 días	17.5 (6.5-21.5)	16 (8-21)	17.5 (11-20)	18.5 (9-20)	15 (0-24)	0.98
Mortalidad hospitalaria, n (%) *	4 (16.00)	4 (14.81)	4 (16.67)	4 (15.38)	8 (27.59)	0.74
Vit C: vitamina C; Vit E: vitamina E; NAC: n-acetilcisteína; MT: melatonina; tx: tratamiento. Estadístico de prueba: Kruskal-Wallis y prueba exacta de Fisher*. Los valores se expresan como mediana (p25 – p75)						

Gráfico 7. Gráfico de supervivencia en la unidad de cuidados intensivos entre los diferentes grupos de tratamiento antioxidante.



Vit C: vitamina C; Vit E: vitamina E; NAC: n-acetilcisteína; Melat: melatonina. Tx: tratamiento.

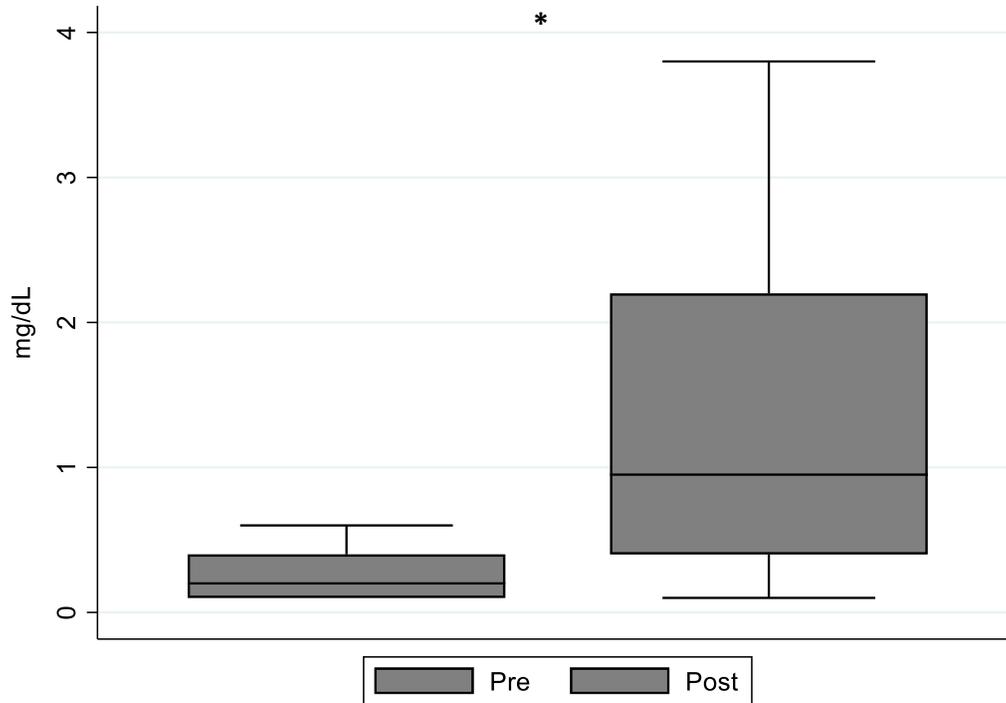
Gráfico 8. Gráfico de supervivencia hospitalaria entre los diferentes grupos de tratamiento antioxidante.



Vit C: vitamina C; Vit E: vitamina E; NAC: n-acetilcisteína; Melat: melatonina. Tx: tratamiento.

VITAMINA C

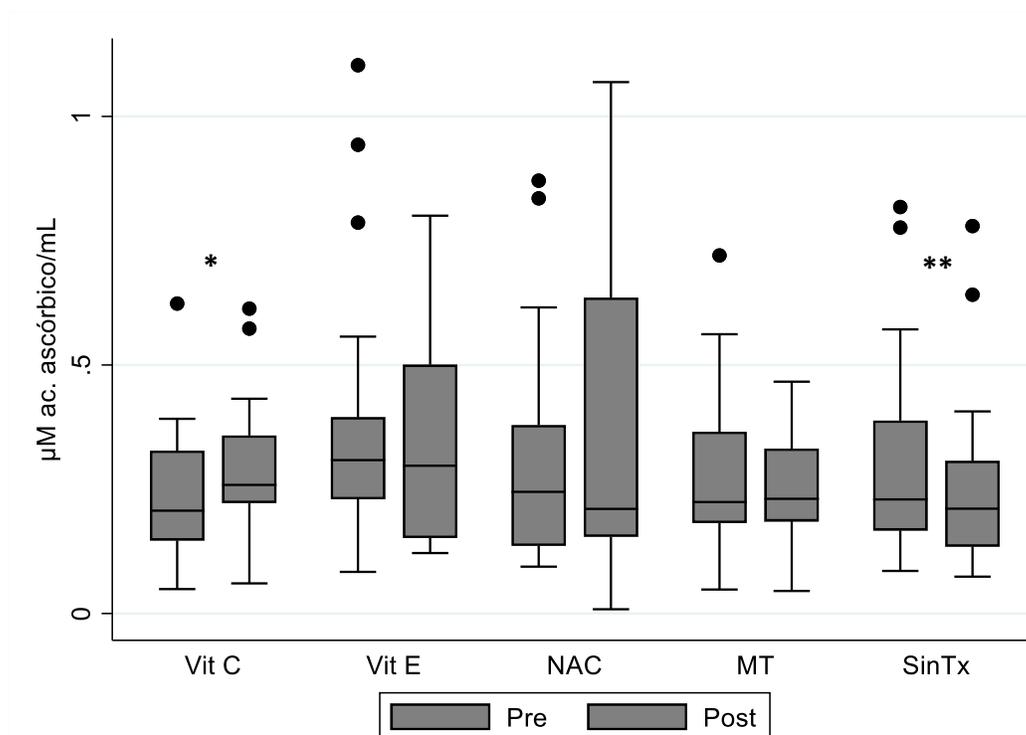
Grafico 9. Niveles de Vitamina C Antes y despues del tratamiento



Vit C: vitamina C. Pre: antes del tratamiento. Post: después del tratamiento. *p = <0.001.

Cuadro 14. Niveles de Vit C antes y después del tratamiento con Vit C.			
	Pre	Post	p
Vit C (n=18)	0.22 ± 0.15	1.41 ± 1.23	<0.001
Vit C: vitamina C. Estadístico de prueba: prueba de t pareada. Los valores se expresan en media ± DE.			

Gráfico 10. Niveles de Vit C por grupo de tratamiento antioxidante antes y después de la terapia



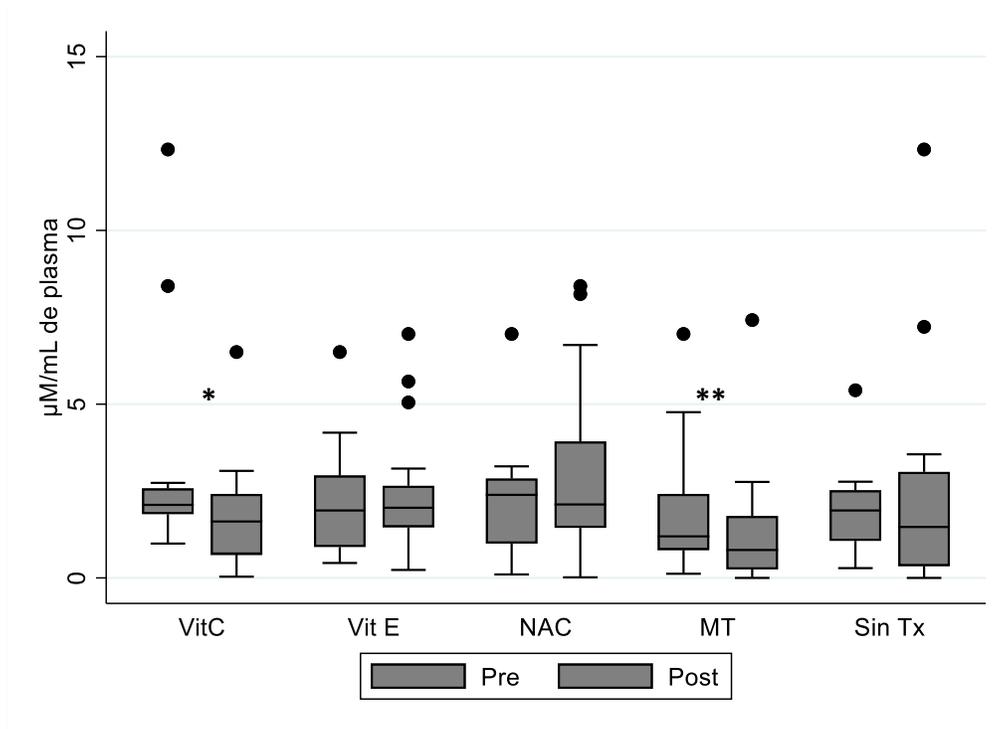
Vit C: vitamina C. Vit E: vitamina E. NAC: n-acetilcisteína. Pre: antes del tratamiento. Post: después del tratamiento. * $p = 0.003$. ** $p = 0.026$.

Cuadro 15. Niveles de Vit C por grupo de tratamiento antes y después de la terapia antioxidante.			
Grupo	Vit C pre	Vit C post	<i>p</i>
Vit C (n=25)	0.20 (0.14 – 0.32)	0.25 (0.22 – 0.35)	0.003
Vit E (n=27)	0.30 (0.22 – 0.39)	0.29 (0.15 – 0.50)	0.464
NAC (n=24)	0.24 (0.13 – 0.37)	0.21 (0.15 – 0.63)	0.621
MT (n=26)	0.22 (0.18 – 0.36)	0.23 (0.18 – 0.33)	0.422
Sin Tx (n=29)	0.22 (0.16 – 0.38)	0.21 (0.13 – 0.30)	0.026

Vit. C: vitamina C. Vit E: vitamina E. NAC: n-acetilcisteína. MT: melatonina. Pre: antes del tratamiento. Post: después del tratamiento. Estadístico de prueba: prueba de rangos señalados de Wilcoxon. Los valores se expresan como mediana (p25 – p75) µM ac. ascórbico/mL plasma.

NITRATOS Y NITRITOS

Gráfico 11. Niveles de nitratos y nitritos por grupo de tratamiento antes y después de la terapia con antioxidantes.



Pre: antes del tratamiento. Post: después del tratamiento. Vit. C: vitamina C. Vit E: vitamina E. NAC: n-acetilcisteína. *p = 0.031; **p=0.097.

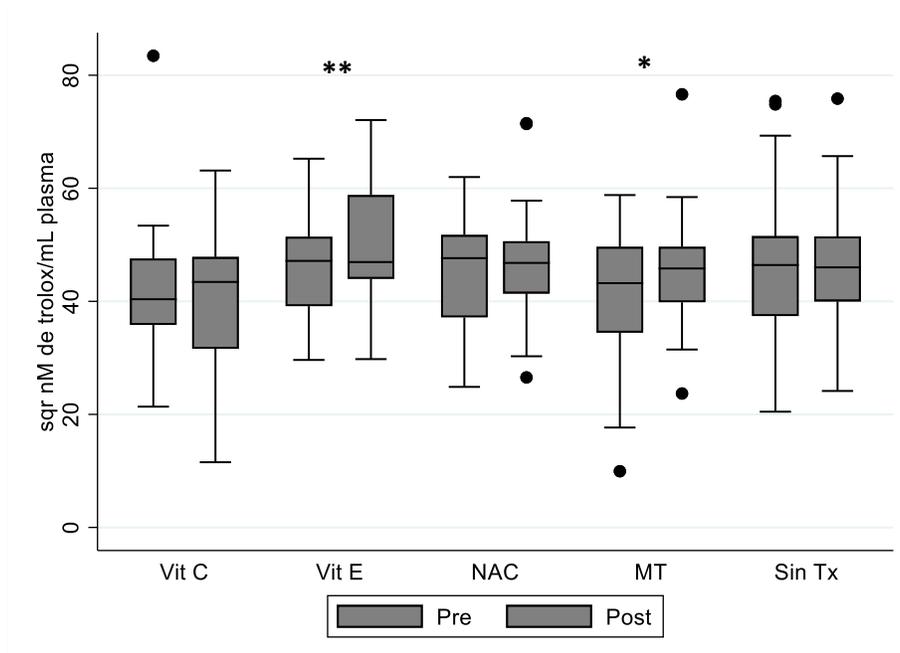
Cuadro 16. Niveles de NO_3^- y NO_2^- por grupo de tratamiento antes y después de la terapia con antioxidantes.

Grupo	NO_3^- y NO_2^- pre	NO_3^- y NO_2^- post	p
Vit C (n=25)	2.10 (1.83 – 2.57)	1.62 (0.67 – 2.41)	0.031
Vit E (n=27)	1.94 (0.88 - 2.94)	2.01 (1.45 – 2.65)	0.417
NAC (n=24)	2.39 (0.98 – 2.86)	2.11 (1.44 – 3.92)	0.359
MT (n=26)	1.19 (0.80 – 2.41)	0.80 (0.24 – 1.78)	0.097
Sin Tx (n=29)	1.94 (1.06 – 2.52)	1.46 (0.34 - 3.05)	1

NO_3^- : nitratos. NO_2^- : nitritos. Pre: antes del tratamiento. Post: después del tratamiento. Vit. C: vitamina C. Vit E: vitamina E. NAC: n-acetilcisteína. MT: melatonina. Estadístico de prueba: prueba de rangos señalados de Wilcoxon. Los valores se expresan en mediana (p25 – p75) µM/mL de plasma.

CAPACIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL

Gráfico 12. Niveles de capacidad antioxidante total por grupo de tratamiento antes y después de la terapia antioxidante.



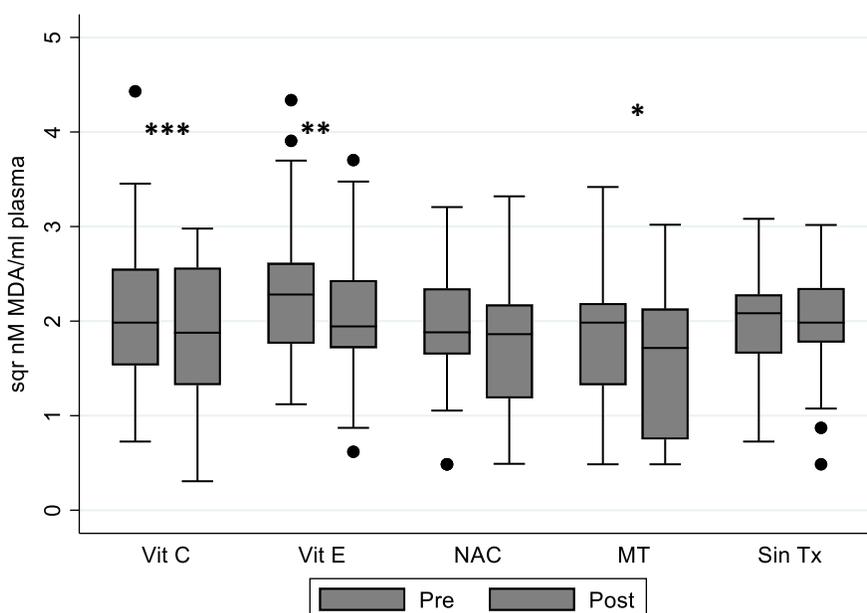
Vit C: vitamina C. Vit E: vitamina E. NAC: n-acetilcisteína. MT: melatonina. sqr = raíz cuadrada. Pre: antes del tratamiento. Post: después del tratamiento. *p = 0.04; **p=0.09.

Cuadro 17. CAT por grupo de tratamiento antes y después de la terapia antioxidante.			
Grupo	CAT		P
Vit C (n=25)	41.96 ± 12.18	39.91 ± 11.08	0.455
Vit E (n=27)	46.83 ± 11.11	49.61 ± 11.23	0.092
NAC (n=24)	45.22 ± 10.82	47.57 ± 10.85	0.325
MT (n=26)	40.76 ± 12.24	45.67 ± 10.54	0.044
Sin Tx (n=29)	47.28 ± 13.98	47.09 ± 11.72	0.937

CAT: Capacidad antioxidante total. Vit. C: vitamina C. Vit E: vitamina E. NAC: n-acetilcisteína. MT: melatonina. Pre: antes del tratamiento. Post: después del tratamiento. Estadístico de prueba: prueba de *t* pareada. Los valores se expresan en media ± desviación estándar sqr nM de trolox/ml.

LIPOPEROXIDACIÓN

Gráfico 13. 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. MT: melatonina sqr = raíz cuadrada. *p = 0.025; **p=0.062; ***p=0.079.

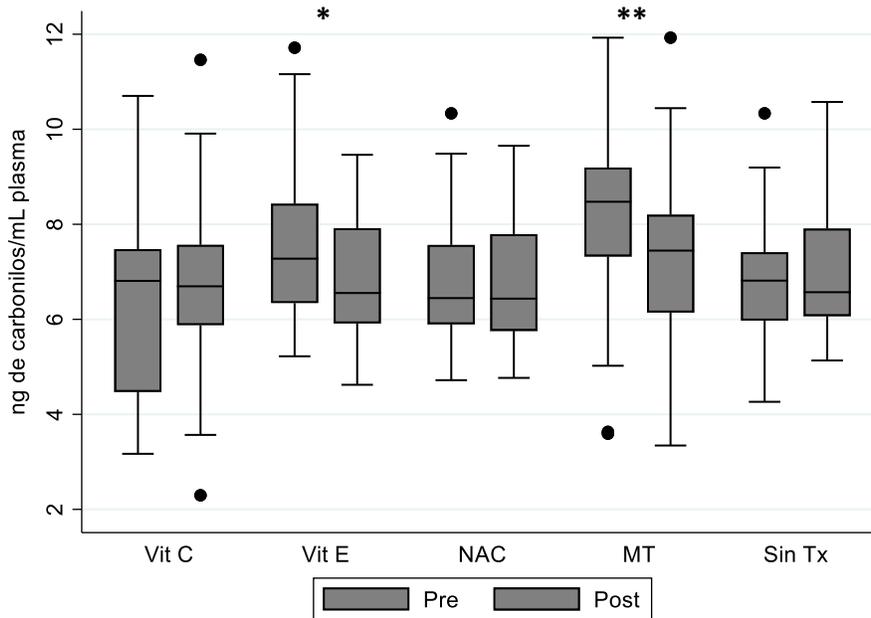
Cuadro 18. Niveles de LPO por grupo de tratamiento antes y después de la terapia con antioxidantes.

Grupo	LPO Pre	LPO Post	p
Vit C (n=25)	2.11 ± 0.83	1.82 ± 0.85	0.079
Vit E (n=27)	2.29 ± 0.85	2.03 ± 0.78	0.062
NAC (n=24)	1.88 ± 0.76	1.72 ± 0.76	0.409
MT (n=26)	1.85 ± 0.80	1.66 ± 0.78	0.025
Sin Tx (n=29)	1.97 ± 0.60	1.91 ± 0.66	0.551

LPO: lipoperoxidación. Pre: antes del tratamiento. Post: después del tratamiento. Vit C: vitamina C. Vit E: vitamina E. NAC: n-acetilcisteína. MT: melatonina. Estadístico de prueba: prueba de *t* pareada. Los valores se expresan en media ± desviación estándar. sqr nM MDA/ml plasma.

CARBONILACIÓN

Gráfico 14. Niveles de carbonilos por grupo de tratamiento antes y después de la terapia antioxidante.



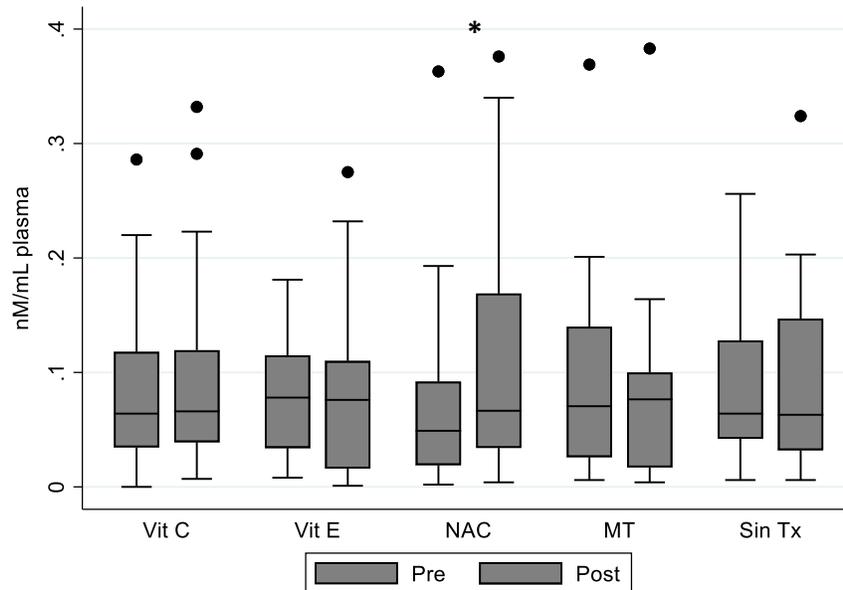
Vit C: vitamina C. Vit E: vitamina E. NAC: n-acetilcisteína. MT: melatonina. Pre: antes del tratamiento. Post: después del tratamiento. * $p=0.175$; ** $p=0.257$

Cuadro 19. 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=25)	6.50 ± 2.07	6.62 ± 2.02	0.763
Vit E (n=27)	7.65 ± 1.86	6.87 ± 1.41	0.175
NAC (n=24)	6.90 ± 1.60	6.81 ± 1.42	0.821
MT (n=26)	7.96 ± 2.43	7.28 ± 2.10	0.257
Sin Tx (n=29)	6.91 ± 1.52	7.04 ± 1.51	0.676

Vit C: vitamina C. Vit E: vitamina E. NAC: n-acetilcisteína. MT: melatonina. Pre: antes del tratamiento. Post: después del tratamiento. Estadístico de prueba: prueba de t pareada. Los valores se expresan en media ± desviación estandar sqrt ng de carbonilos/mL plasma.

GSH

Gráfico 15. Gráfico de cajas y bigotes de los niveles de GSH por grupo de tratamiento antes y después de la terapia antioxidante.



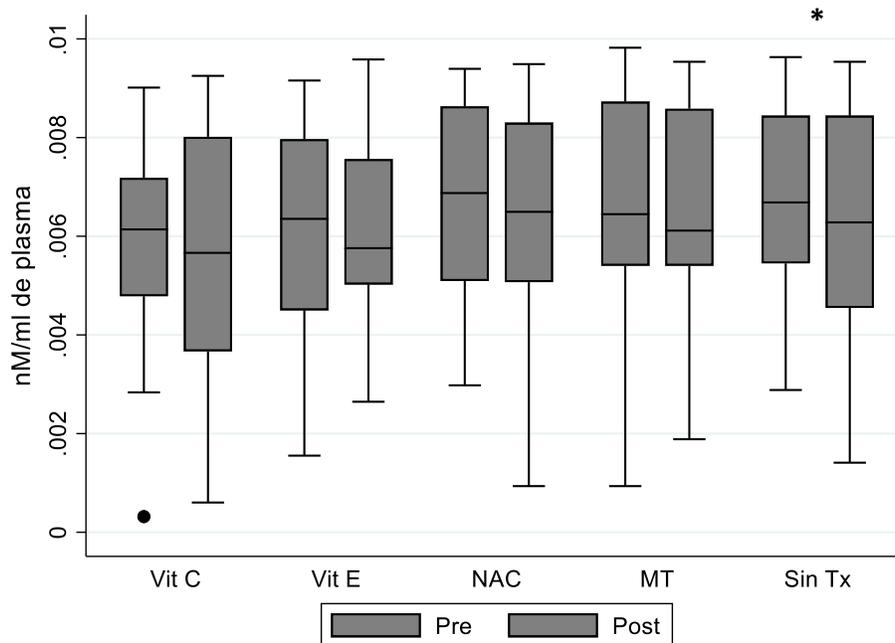
Vit C: vitamina C. Vit E: vitamina E. NAC: n-acetilcisteína. Pre: antes del tratamiento. Post: después del tratamiento. * $p=0.021$

Cuadro 20. Niveles de GSH por grupo de tratamiento antes y después de la terapia antioxidante.			
Grupo	GSH pre	GSH post	p
Vit C (n=25)	0.064 (0.034 - 0.118)	0.066 (0.039 - 0.119)	0.545
Vit E (n=27)	0.078 (0.034 - 0.115)	0.076 (0.016 - 0.11)	0.790
NAC (n=24)	0.049 (0.019 - 0.092)	0.066 (0.034 - 0.169)	0.021
MT (n=26)	0.070 (0.026 - 0.14)	0.076 (0.017 - 0.1)	0.518
Sin Tx (n=29)	0.064 (0.042 - 0.128)	0.063 (0.032 - 0.147)	0.449

GSH: glutatión. Vit C: vitamina C. Vit E: vitamina E. NAC: n-acetilcisteína. MT: melatonina. Pre: antes del tratamiento. Post: después del tratamiento. Estadístico de prueba: prueba de rangos señalados de Wilcoxon. Los valores se expresan en mediana (p25-p75) nM/ml plasma.

SELENIO

Gráfico 16. Gráfico de cajas y bigotes de los niveles de Se por grupo de tratamiento antes y después de la terapia antioxidante.



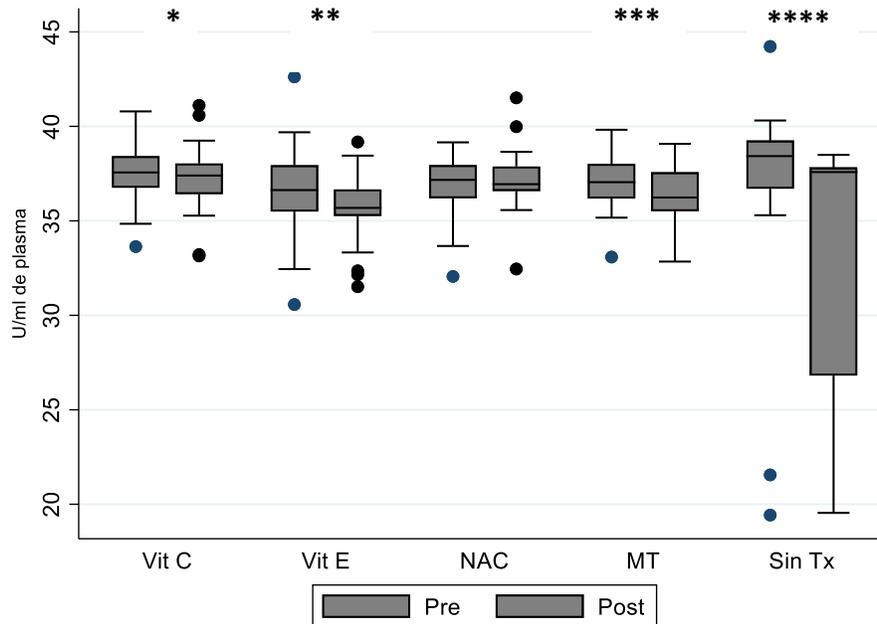
Vit C: vitamina C. Vit E: vitamina E. NAC: n-acetilcisteína. MT: melatonina. Pre: antes del tratamiento. Post: después del tratamiento. * $p=0.04$

Cuadro 21. Niveles de selenio por grupo de tratamiento antes y después de la terapia antioxidante.			
Grupo	Selenio pre	Selenio post	<i>p</i>
Vit C (n=25)	0.0059 ± 0.00042	0.0055 ± 0.00052	0.27
Vit E (n=27)	0.0061 ± 0.00043	0.0062 ± 0.00038	0.85
NAC (n=24)	0.0067 ± 0.00044	0.0062 ± 0.00056	0.14
MT (n=26)	0.0064 ± 0.00049	0.0064 ± 0.00045	0.85
Sin Tx (n=29)	0.0067 ± 0.00040	0.0062 ± 0.00051	0.04

Vit C: vitamina C. Vit E: vitamina E. NAC: n-acetilcisteína. MT: melatonina. Pre: antes del tratamiento. Post: después del tratamiento. Estadístico de prueba: prueba de *t* pareada. Los valores se expresan media ± desviación estándar nM/mL de plasma.

SUPER OXIDO DISMUTASA

Gráfico 17. Gráfico de cajas y bigotes de los niveles de SOD por grupo de tratamiento antes y después de la terapia antioxidante.



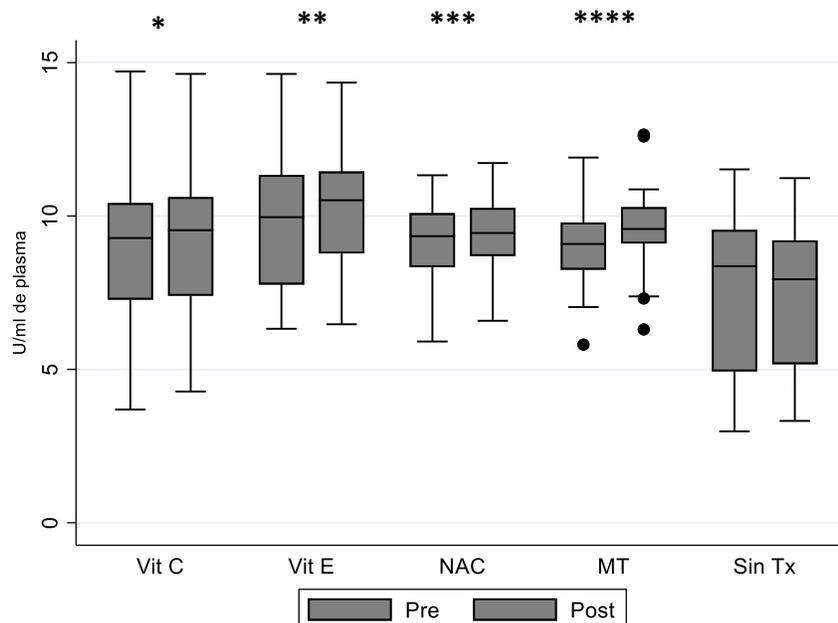
Vit C: vitamina C. Vit E: vitamina E. NAC: n-acetilcisteína. MT: melatonina. Pre: antes del tratamiento. Post: después del tratamiento. * $p=0.031$; ** $p=0.002$; *** 0.014 ; **** 0.021

Cuadro 22. Niveles de SOD por grupo de tratamiento antes y después de la terapia antioxidante.			
Grupo	SOD pre	SOD post	p
Vit C (n=25)	37.56 (36.74 – 38.42)	37.39 (36.41 – 38.03)	0.031
Vit E (n=27)	36.62 (35.48 – 37.94)	35.68 (35.25 – 36.66)	0.002
NAC (n=24)	37.16 (36.19 – 37.95)	36.94 (36.57 – 37.87)	0.945
MT (n=26)	37.04 (36.17 - 38.01)	36.23 (35.50 – 37.56)	0.014
Sin Tx (n=29)	38.42 (36.69 - 39.24)	37.58 (26.80 - 37.82)	0.021

Vit C: vitamina C. Vit E: vitamina E. NAC: n-acetilcisteína. MT: melatonina. Pre: antes del tratamiento. Post: después del tratamiento. Estadístico de prueba: prueba de rangos señalados de Wilcoxon. Los valores se expresan como U/ml de plasma.

PEROXIDASAS

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



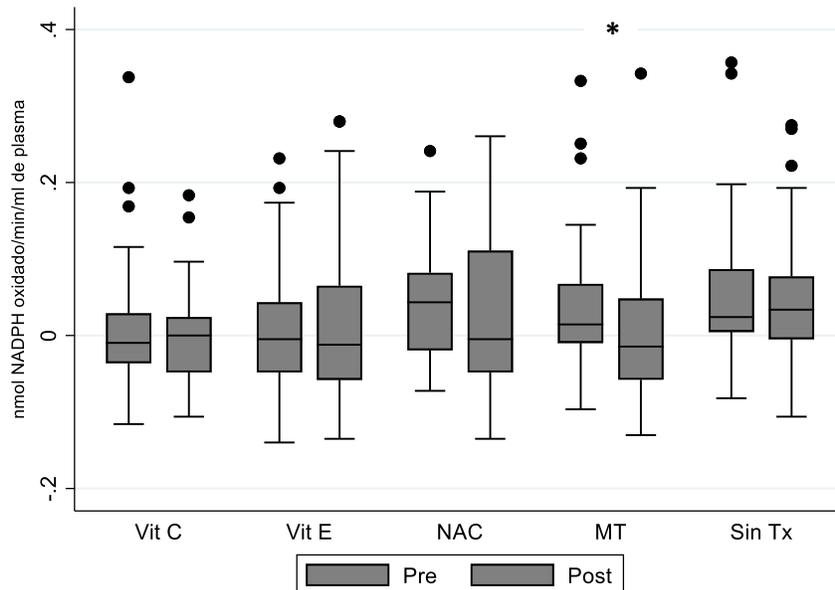
Vit C: vitamina C. Vit E: vitamina E. NAC: n-acetilcisteína. MT: melatonina. Pre: antes del tratamiento. Post: después del tratamiento. * $p=0.069$; ** $p=0.002$; *** $p=0.014$; **** $p<0.001$

Cuadro 23. Niveles de Px por grupo de tratamiento antes y después de la terapia antioxidante.			
Grupo	Px pre	Px post	p
Vit C (n=25)	9.28 (7.27 - 10.42)	9.53 (7.39 - 10.61)	0.069
Vit E (n=27)	9.96 (7.76 - 11.33)	10.51 (8.77 - 11.44)	0.002
NAC (n=24)	9.34 (8.33 - 10.08)	9.44 (8.69 - 10.26)	0.014
MT (n=26)	9.08 (8.25 - 9.79)	9.57 (9.10 - 10.28)	<0.001
Sin Tx (n=29)	8.48 (5.00 - 9.51)	7.79 (5.01 - 9.20)	0.768

Vit C: vitamina C. Vit E: vitamina E. NAC: n-acetilcisteína. MT: melatonina. Pre: antes del tratamiento. Post: después del tratamiento. Estadístico de prueba: prueba de rangos señalados de Wilcoxon. Los valores se expresan como U/ml de plasma.

GLUTATION PEROXIDASA

Gráfico 19. Gráfico de cajas y bigotes de los niveles de GPx por grupo de tratamiento antes y después de la terapia antioxidante



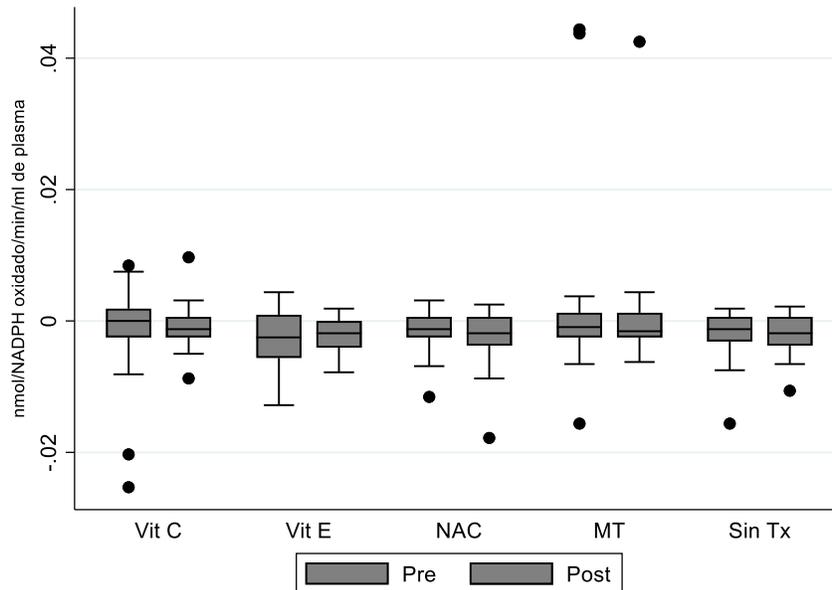
Vit C: vitamina C. Vit E: vitamina E. NAC: n-acetilcisteína. MT: melatonina. Pre: antes del tratamiento. Post: después del tratamiento. * $p=0.022$

Cuadro 24. Niveles de GPx por grupo de tratamiento antes y después de la terapia antioxidante.			
Grupo	GPx pre	GPx post	p
Vit C (n=25)	-0.009 (-0.036 - 0.028)	0 (-0.048 - 0.024)	0.341
Vit E (n=27)	-0.004 (-0.048 - 0.043)	-0.012 (-0.057 - 0.065)	0.495
NAC (n=24)	0.043 (-0.019 - 0.081)	-0.004 (-0.048 - 0.110)	0.100
MT (n=26)	0.014 (-0.009 - 0.067)	-0.014 (-0.057 - 0.048)	0.022
Sin Tx (n=29)	0.024 (0.004 - 0.086)	0.033 (-0.004 - 0.077)	0.816

Vit C: vitamina C. Vit E: vitamina E. NAC: n-acetilcisteína. MT: melatonina. Pre: antes del tratamiento. Post: después del tratamiento. Estadístico de prueba: prueba de rangos señalados de Wilcoxon. Los valores se expresan como nmol/NADPH oxidado/min/ml de plasma.

GLUTATION S TRANSFERASA

Gráfico 20. Gráfico de cajas y bigotes de los niveles de GST por grupo de tratamiento antes y después de la terapia antioxidante



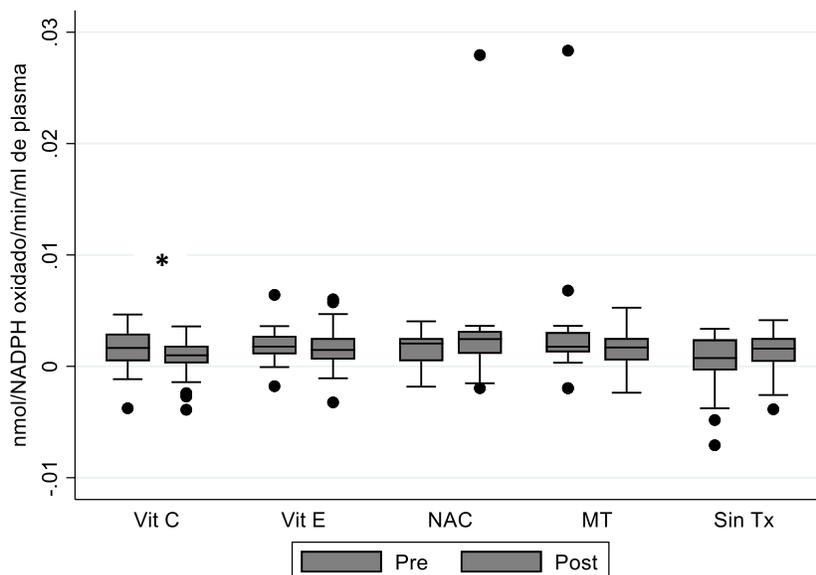
Vit C: vitamina C. Vit E: vitamina E. NAC: n-acetilcisteína. MT: melatonina. Pre: antes del tratamiento. Post: después del tratamiento.

Cuadro 25. Niveles de GST por grupo de tratamiento antes y después de la terapia antioxidante.			
Grupo	GST pre	GST post	p
Vit C (n=25)	0 (-0.002 - 0.001)	-0.001 (-0.002 - 0.0006)	0.368
Vit E (n=27)	-0.002 (-0.005 - 0.0009)	-0.001 (-0.004 - 0)	0.659
NAC (n=24)	-0.001 (-0.002 - 0.0006)	-0.001 (-0.003 - 0.0006)	0.399
MT (n=26)	-0.0009 (-0.002 - 0.001)	-0.001 (-0.002 - 0.001)	0.626
Sin Tx (n=29)	-0.001 (-0.003 - 0.0006)	-0.001 (-0.003 - 0.0006)	0.925

Vit C: vitamina C. Vit E: vitamina E. NAC: n-acetilcisteína. MT: melatonina. Pre: antes del tratamiento. Post: después del tratamiento. Estadístico de prueba: prueba de rangos señalados de Wilcoxon. Los valores se expresan como nmol/NADPH oxidado/min/ml de plasma.

GLUTATION REDUCTASA

Gráfico 21. Gráfico de cajas y bigotes de los niveles de GR por grupo de tratamiento antes y después de la terapia antioxidante



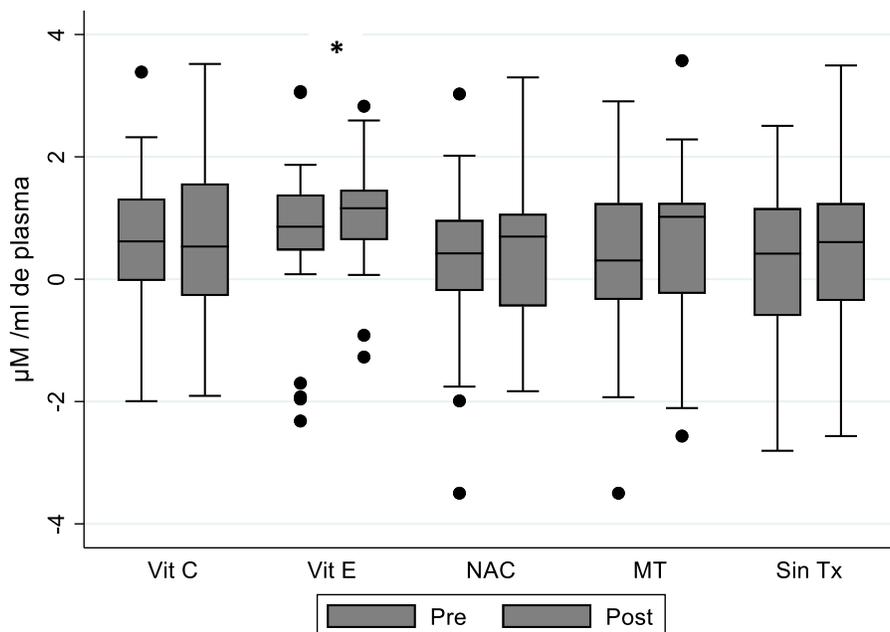
Vit C: vitamina C. Vit E: vitamina E. NAC: n-acetilcisteína. MT: melatonina. Pre: antes del tratamiento. Post: después del tratamiento. * $p=0.01$.

Cuadro 26. Niveles de GR por grupo de tratamiento antes y después de la terapia antioxidante.			
Grupo	GR pre	GR post	p
Vit C (n=25)	0.001 (0.0004 - 0.0029)	0.0009 (0.0002 - 0.0018)	0.010
Vit E (n=27)	0.0017 (0.0010 - 0.0027)	0.0014 (0.0006 - 0.0025)	0.418
NAC (n=24)	0.0020 (0.0004 - 0.0025)	0.0024 (0.0011 - 0.0031)	0.483
MT (n=26)	0.0017 (0.0012 - 0.0030)	0.0016 (0.0005 - 0.0025)	0.261
Sin Tx (n=29)	0.0007 (-0.0003 - 0.0024)	0.0015 (0.0004 - 0.0025)	0.252

Vit C: vitamina C. Vit E: vitamina E. NAC: n-acetilcisteína. MT: melatonina. Pre: antes del tratamiento. Post: después del tratamiento. Estadístico de prueba: prueba de rangos señalados de Wilcoxon. Los valores se expresan como nmol/NADPH oxidado/min/ml de plasma.

TIOLES

Gráfico 22. Gráfico de cajas y bigotes de los niveles de tioles por grupo de tratamiento antes y después de la terapia antioxidante



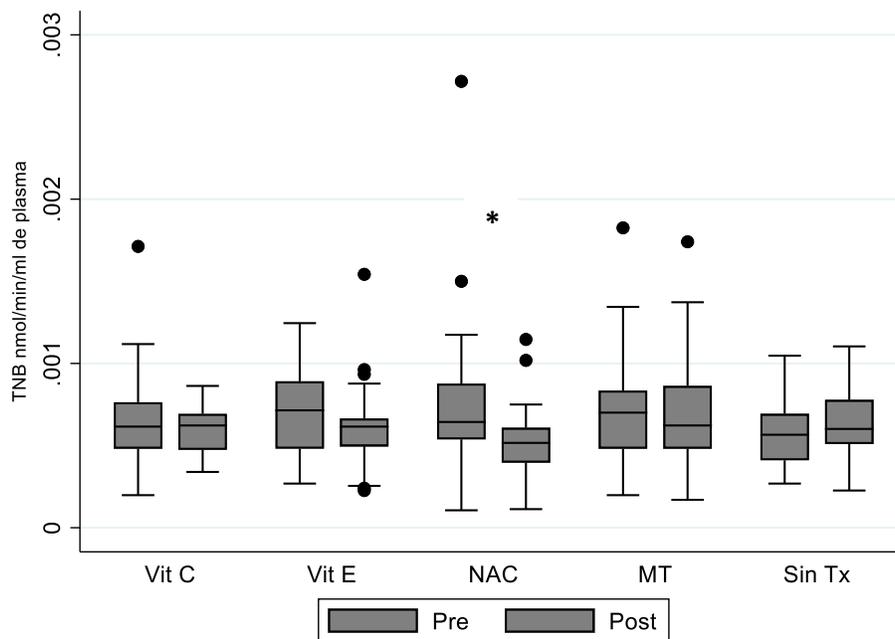
Vit C: vitamina C. Vit E: vitamina E. NAC: n-acetilcisteína. MT: melatonina. Pre: antes del tratamiento. Post: después del tratamiento.

Cuadro 27. Niveles de tioles por grupo de tratamiento antes y después de la terapia antioxidante.			
Grupo	Tioles pre	Tioles post	p
Vit C (n=25)	0.568 ± 1.25	0.523 ± 1.40	0.770
Vit E (n=27)	0.653 ± 1.37	1.06 ± 0.911	0.024
NAC (n=24)	0.232 ± 1.43	0.391 ± 1.23	0.482
MT (n=26)	0.289 ± 1.48	0.511 ± 1.45	0.341
Sin Tx (n=29)	0.181 ± 1.34	0.376 ± 1.48	0.471

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

TIOREDIXINA

Gráfico 23. Gráfico de cajas y bigotes de los niveles de tioredoxina (Trx) por grupo de tratamiento antes y después de la terapia antioxidante



Vit C: vitamina C. Vit E: vitamina E. NAC: n-acetilcisteína. MT: melatonina. Pre: antes del tratamiento. Post: después del tratamiento. *p=0.049

Cuadro 28. Niveles de Trx por grupo de tratamiento antes y después de la terapia antioxidante.			
Grupo	Trx pre	Trx post	p
Vit C (n=25)	0.0006 (0.0004 - 0.0007)	0.0006 (0.0004 - 0.0006)	0.299
Vit E (n=27)	0.0007 (0.0004 - 0.0008)	0.0006 (0.0004 - 0.0006)	0.299
NAC (n=24)	0.0006 (0.0005 - 0.0008)	0.0005 (0.0003 - 0.0006)	0.049
MT (n=26)	0.0007 (0.0004 - 0.0008)	0.0006 (0.0004 - 0.0008)	0.993
Sin Tx (n=29)	0.0005 (0.0004 - 0.0006)	0.0006 (0.0005 - 0.0007)	0.118

Vit C: vitamina C. Vit E: vitamina E. NAC: n-acetilcisteína. MT: melatonina. Pre: antes del tratamiento. Post: después del tratamiento. Estadístico de prueba: prueba de *t* pareada. Los valores se expresan en TNB nmol/min/ml de plasma.

RESUMEN DE LOS DIFERENTES MARCADORES DE ESTRÉS OXIDANTE

Cuadro 29. Resumen de los diferentes marcadores de estrés oxidante

Grupo	Vit C	LPO	CAR	CAT	NO ₃ ⁻ NO ₂ ⁻	Se	GSH	TIO	SOD	PX	GPx	GST	GR	Trx
Vit C	↑	↓	-	-	↓	-	-	-	↓	↑	-	-	↓	-
Vit E	-	↓	-	↑	-	-	-	↑	↓	↑	-	-	-	-
NAC	-	-	-	-	-	-	↑	-	-	↑	↓	-	-	↓
MT	-	↓	-	↑	↓	-	-	-	↓	↑	↓	-	-	-
Sin Tx	↓	-	-	-	-	↓	-	-	↓	-	-	-	-	-

Vit C: vitamina C. Vit E: vitamina E. NAC: n-acetilcisteína. MT: melatonina. Sin Tx: sin tratamiento. LPO: lipoperoxidación. CAR: Carbonilación. CAT: capacidad antioxidante total. NO₃⁻ NO₂⁻: nitratos y nitritos. Se: selenio. GSH: glutatión. TIO: tioles. SOD: superóxido dismutasa. PX: peroxidasa. GPx: glutatión peroxidasa. GST: glutatión s transferasa. GR: glutatión reductasa. Trx: tioredoxina.

IL-1β

Cuadro30. Niveles de IL-1β por grupo de tratamiento antes y después de la terapia antioxidante.

Grupo	IL-1β pre	IL-1β post	p
Vit C (n=25)	9.8 (8.12 - 23.15)	8.12 (8.12 - 24.1)	0.59
Vit E (n=27)	8.12 (8.12 - 10.685)	8.12 (8.12 - 30.54)	0.32
NAC (n=24)	9.34 (8.12 - 24.495)	8.12 (8.12 - 33.42)	0.97
MT (n=26)	8.12 (8.12 - 18.75)	8.12 (8.12 - 49)	0.17
Sin Tx (n=29)	8.12 (8.12 - 62.86)	8.12 (8.12 - 45.25)	0.64
Total (n=131)	8.12 (8.12 - 23.15)	8.12 (8.12 - 32.53)	0.61

Vit C: vitamina C. Vit E: vitamina E. NAC: n-acetilcisteína. MT: melatonina. Pre: antes del tratamiento. Post: después del tratamiento. **IL-1β: interleucina 1 β.** Estadístico de prueba: prueba de rangos señalados de Wilcoxon. Los valores se expresan en pg/mL.

IL-2

Cuadro 31. Niveles de IL-2 por grupo de tratamiento antes y después de la terapia antioxidante.			
Grupo	IL-2 pre	IL-2 post	p
Vit C (n=25)	0.52 (0.45 – 2.21)	0.45 (0.45 – 1.94)	0.46
Vit E (n=27)	0.50 (0.45 – 1.87)	0.45 (0.45 – 3.10)	0.37
NAC (n=24)	0.50 (0.45 – 1.35)	0.51 (0.45 – 4.44)	0.28
MT (n=26)	0.45 (0.45 – 0.66)	0.45 (0.45 – 1.75)	0.21
Sin Tx (n=29)	0.45 (0.45 – 2.44)	0.45 (0.45 – 1.60)	0.93
Total (n=131)	0.45 (0.45 – 1.68)	0.45 (0.45 – 2.28)	0.32

Vit C: vitamina C. Vit E: vitamina E. NAC: n-acetilcisteína. MT: melatonina. Pre: antes del tratamiento. Post: después del tratamiento. IL-2: interleucina 2. Estadístico de prueba: prueba de rangos señalados de Wilcoxon. Los valores se expresan en pg/mL.

IL-4

Cuadro 32. Niveles de IL-4 por grupo de tratamiento antes y después de la terapia antioxidante.			
Grupo	IL-4 pre	IL-4 post	p
Vit C (n=25)	2.36 (0.39 – 18.08)	1.19 (0.39 – 10.2)	0.40
Vit E (n=27)	3.86 (0.39 – 25.11)	4.61 (0.39 – 26.15)	0.27
NAC (n=24)	3.19 (0.39 - 37.85)	3.23 (0.39 - 17.37)	0.34
MT (n=26)	3.95 (1.64 – 11.12)	2.22 (0.39 – 18.39)	0.06
Sin Tx (n=29)	3.75 (0.39 – 17.17)	1.34 (0.39 – 8.78)	0.67
Total (n=131)	3.75 (0.39 – 18.08)	2.22 (0.39 – 16.92)	0.18

Vit C: vitamina C. Vit E: vitamina E. NAC: n-acetilcisteína. MT: melatonina. Pre: antes del tratamiento. Post: después del tratamiento. IL4: interleucina 4. Estadístico de prueba: prueba de rangos señalados de Wilcoxon. Los valores se expresan en pg/mL.

IL-6

Cuadro 33. Niveles de IL-6 por grupo de tratamiento antes y después de la terapia antioxidante.			
Grupo	IL-6 pre	IL-6 post	p
Vit C (n=25)	124.89 (22.35 - 546.49)	59.82 (14.93 - 148.1)	0.010
Vit E (n=27)	106.345 (5.64 - 512.885)	16.965 (0.94 - 233.24)	0.11
NAC (n=24)	127.48 (31.27 - 997.595)	69.85 (3.805 - 231.895)	0.48
MT (n=26)	344.87 (15.13 - 564.88)	23.25 (7.45 - 238.45)	<0.001
Sin Tx (n=29)	236.24 (22.92 - 2197.01)	35.97 (6.91 - 112.95)	0.007
Total (n=131)	147.17 (22.92 - 613.54)	35.97 (6.91 - 169.52)	<0.001

Vit C: vitamina C. Vit E: vitamina E. NAC: n-acetilcisteína. MT: melatonina. Pre: antes del tratamiento. Post: después del tratamiento. IL-6: interleucina 6. Estadístico de prueba: prueba de rangos señalados de Wilcoxon. Los valores se expresan en pg/mL.

IL-8

Cuadro 34. Niveles de IL-8 por grupo de tratamiento antes y después de la terapia antioxidante.			
Grupo	IL-8 pre	IL-8 post	p
Vit C (n=25)	10.76 (4.81 - 20.96)	6.10 (2.53 - 18.42)	0.30
Vit E (n=27)	10.955 (4.12 - 32.35)	5.68 (2.29 - 15.88)	0.06
NAC (n=24)	13.14 (5.13 - 30.96)	7.58 (3.78 - 20.46)	0.38
MT (n=26)	10.39 (3.73 - 27.17)	6.04 (2.99 - 18.03)	0.003
Sin Tx (n=29)	20.23 (6.58 - 45.15)	7.55 (3.10 - 15.07)	0.04
Total (n=131)	12.92 (4.48 - 30.59)	6.58 (3.10 - 18.42)	<0.001

Vit C: vitamina C. Vit E: vitamina E. NAC: n-acetilcisteína. MT: melatonina. Pre: antes del tratamiento. Post: después del tratamiento. IL-8: interleucina 8. Estadístico de prueba: prueba de rangos señalados de Wilcoxon. Los valores se expresan en pg/mL.

IL-10

Cuadro 35. Niveles de IL-10 por grupo de tratamiento antes y después de la terapia antioxidante.			
Grupo	IL-10 pre	IL-10 post	p
Vit C (n=25)	2.38 (0.64 - 6.52)	1.41 (0.64 - 5.66)	0.93
Vit E (n=27)	1.045 (0.64 - 8.515)	0.775 (0.64 - 4.71)	0.50
NAC (n=24)	1.87 (0.64 - 5.53)	1.125 (0.64 - 15.6)	0.44
MT (n=26)	2.39 (0.97 - 4.23)	0.64 (0.64 - 3.65)	0.001
Sin Tx (n=29)	5.86 (1.14 - 57.7)	1.16 (0.64 - 15.38)	0.37
Total (n=131)	2.38 (0.64 - 9.39)	1.03 (0.64 - 6.66)	0.11

Vit C: vitamina C. Vit E: vitamina E. NAC: n-acetilcisteína. MT: melatonina. Pre: antes del tratamiento. Post: después del tratamiento. IL-10: interleucina 10. Estadístico de prueba: prueba de rangos señalados de Wilcoxon. Los valores se expresan en pg/mL.

IL-12p70

Cuadro 36. Niveles de IL-12p70- por grupo de tratamiento antes y después de la terapia antioxidante.			
Grupo	IL-12p70 pre	IL-12p70 post	p
Vit C (n=25)	0.89 (0.85 - 2.8)	1.01 (0.85 - 1.98)	0.35
Vit E (n=27)	1.03 (0.85 - 2.21)	1.19 (0.85 - 4.79)	0.20
NAC (n=24)	1.22 (0.965 - 2.49)	1.285 (0.85 - 4.18)	0.33
MT (n=26)	1.08 (0.85 - 1.45)	0.91 (0.85 - 1.27)	0.24
Sin Tx (n=29)	1.2 (0.85 - 4.64)	1.11 (0.85 - 3.58)	0.88
Total (n=131)	1.1 (0.85 - 2.03)	1.06 (0.85 - 1.87)	0.43

Vit C: vitamina C. Vit E: vitamina E. NAC: n-acetilcisteína. MT: melatonina. Pre: antes del tratamiento. Post: después del tratamiento. IL-12p70: interleucina 12p70. Estadístico de prueba: prueba de rangos señalados de Wilcoxon. Los valores se expresan en pg/mL.

IL-17A

Cuadro 37. Niveles de IL-17A por grupo de tratamiento antes y después de la terapia antioxidante.			
Grupo	IL-17A pre	IL-17A post	p
Vit C (n=25)	2.18 (0.36 - 5.28)	1.07 (0.36 - 3.87)	0.77
Vit E (n=27)	0.52 (0.33 - 4.23)	0.45 (0.33 - 5.5)	0.63
NAC (n=24)	0.60 (0.33 - 3.55)	0.57 (0.33 - 3.97)	0.84
MT (n=26)	0.48 (0.33 - 1.02)	0.43 (0.33 - 1.31)	0.68
Sin Tx (n=29)	0.68 (0.33 - 8.08)	0.54 (0.33 - 7.34)	0.81
Total (n=131)	0.68 (0.33 - 3.34)	0.56 (0.33 - 4.17)	0.73

Vit C: vitamina C. Vit E: vitamina E. NAC: n-acetilcisteína. MT: melatonina. Pre: antes del tratamiento. Post: después del tratamiento. IL-17A: interleucina 17A. Estadístico de prueba: prueba de rangos señalados de Wilcoxon. Los valores se expresan en pg/mL.

TNF- α

Cuadro 38. Niveles de TNF α por grupo de tratamiento antes y después de la terapia antioxidante.			
Grupo	TNF-α pre	TNF-α post	p
Vit C (n=25)	0.68 (0.41 - 5.13)	0.59 (0.41 - 3.81)	0.74
Vit E (n=27)	0.65 (0.41 - 3.345)	0.41 (0.41 - 7.52)	0.68
NAC (n=24)	0.75 (0.41 - 4.87)	0.87 (0.41 - 10.57)	0.31
MT (n=26)	0.65 (0.41 - 1.7)	0.84 (0.41 - 2.19)	0.56
Sin Tx (n=29)	0.41 (0.41 - 2.86)	0.71 (0.41 - 3.96)	0.64
Total (n=131)	0.65 (0.41 - 2.52)	0.68 (0.41 - 3.96)	0.35

Vit C: vitamina C. Vit E: vitamina E. NAC: n-acetilcisteína. MT: melatonina. Pre: antes del tratamiento. Post: después del tratamiento. TNF- α : factor de necrosis tumoral α . Estadístico de prueba: prueba de rangos señalados de Wilcoxon. Los valores se expresan en pg/mL.

IFN- γ

Cuadro 39. Niveles de IFN γ por grupo de tratamiento antes y después de la terapia antioxidante.			
Grupo	IFN-γ pre	IFN-γ post	p
Vit C (n=25)	3.08 (3.05 - 31.40)	3.05 (3.05 - 23.01)	0.95
Vit E (n=27)	3.15 (3.05 - 20.77)	3.05 (3.05 - 96.16)	0.14
NAC (n=24)	3.49 (3.05 - 23.98)	3.93 (3.05 - 36.71)	0.73
MT (n=26)	3.05 (3.05 - 18.18)	3.05 (3.05 - 14.09)	1.00
Sin Tx (n=29)	3.2 (3.05 - 67.44)	3.05 (3.05 - 33.24)	0.26
Total (n=131)	3.08 (3.05 - 28.09)	3.05 (3.05 - 26.11)	0.78

Vit C: vitamina C. Vit E: vitamina E. NAC: n-acetilcisteína. MT: melatonina. Pre: antes del tratamiento. Post: después del tratamiento. INF γ : interferón γ . Estadístico de prueba: prueba de rangos señalados de Wilcoxon. Los valores se expresan en pg/mL.

TGF- β

Cuadro 40. Niveles de TGF β por grupo de tratamiento antes y después de la terapia antioxidante.			
Grupo	TGF-β pre	TGF-β post	p
Vit C (n=25)	44.71 (19.41 - 116.27)	46.97 (21.04 - 118.31)	0.95
Vit E (n=27)	38.82 (8.87 - 133.05)	45.13 (8.87 - 140.585)	0.62
NAC (n=24)	23.09 (8.87 - 76.65)	48.77 (11.885 - 86.765)	0.17
MT (n=26)	51.27 (16.97 - 128.06)	58.96 (8.87 - 133.42)	0.54
Sin Tx (n=29)	36.42 (8.87 - 201.35)	75.86 (8.87 - 134.89)	0.66
Total (n=131)	36.42 (8.87 - 116.27)	52.39 (8.87 - 131.5)	0.34

Vit C: vitamina C. Vit E: vitamina E. NAC: n-acetilcisteína. MT: melatonina. Pre: antes del tratamiento. Post: después del tratamiento. TGF β -1: factor transformador del crecimiento β -1. Estadístico de prueba: prueba de rangos señalados de Wilcoxon. Los valores se expresan en pg/mL.

IP-10

Cuadro 41. Niveles de IP-10 por grupo de tratamiento antes y después de la terapia antioxidante.			
Grupo	IP-10 pre	IP-10 post	p
Vit C (n=25)	66.86 (24.54 - 117.11)	76.86 (24.21 - 144.86)	0.27
Vit E (n=27)	95.83 (24.195 - 137.05)	63.62 (19.84 - 112.31)	0.31
NAC (n=24)	43.40 (23.1 - 75.34)	45.13 (21.92 - 81.75)	0.75
MT (n=26)	71.52 (22.24 - 145.73)	56.08 (15.73 - 108.09)	0.15
Sin Tx (n=29)	107.68 (19.64 - 289.69)	55.15 (17.89 - 173.4)	0.15
Total (n=131)	70.81 (22.89 - 145.73)	58.27 (18.13 - 110.76)	0.16
Vit C: vitamina C. Vit E: vitamina E. NAC: n-acetilcisteína. MT: melatonina. Pre: antes del tratamiento. Post: después del tratamiento. IP-10: proteína inducible de interferón γ 10. Estadístico de prueba: prueba de rangos señalados de Wilcoxon. Los valores se expresan en pg/mL.			

MCP-1

Cuadro 42. Niveles de MCP-1 por grupo de tratamiento antes y después de la terapia antioxidante.			
Grupo	MCP-1 pre	MCP-1 post	p
Vit C (n=25)	211.58 (66.99 - 462.59)	225.40 (123.84 - 446.68)	0.28
Vit E (n=27)	181.71 (59.285 - 375.93)	110.62 (51.585 - 266.70)	0.77
NAC (n=24)	257.62 (257.625 - 928.44)	146.51 (107.955 - 581.91)	0.21
MT (n=26)	286.95 (132.93 - 881.8)	224.91 (71.63 - 430.29)	0.044
Sin Tx (n=29)	316.52 (183.18 - 1521.63)	185.04 (94.84 - 350.56)	0.004
Total (n=131)	272.81 (115.8 - 639.38)	168.72 (80.68 - 368.39)	<0.001
Vit C: vitamina C. Vit E: vitamina E. NAC: n-acetilcisteína. MT: melatonina. Pre: antes del tratamiento. Post: después del tratamiento. MCP-1; proteína quimiotáctica de monocitos 1; Estadístico de prueba: prueba de rangos señalados de Wilcoxon. Los valores se expresan en pg/mL.			

RESUMEN DE LOS DIFERENTES MARCADORES DE INFLAMACIÓN

Cuadro 43. Resumen de los diferentes marcadores de la vía inflamatoria.

Grupo	IL1 β	IL2	IL4	IL6	IL8	IL10	IL12 p70	IL17a	TNF α	IFN γ	TGF β 1	IP10	MCP1
Vit C	-	-	-	↓	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Vit E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NAC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MT	-	-	-	↓	↓	↓	-	-	-	-	-	-	↓
Sin Tx	-	-	-	↓	↓	-	-	-	-	-	-	-	↓

Vit C: vitamina C. Vit E: vitamina E. NAC: n-acetilcisteína. MT: melatonina. Sin Tx: sin tratamiento. IL-1 β : interleucina 1 β ; IL-2: interleucina 2; IL-4: interleucina 4; IL-6: interleucina 6; IL-8: interleucina 8; IL-10: interleucina 10; IL-12p70: interleucina 12p70; IL-17A: interleucina 17A; TNF- α : factor de necrosis tumoral α ; IFN γ : interferón γ ; IP-10: proteína inducible de interferón γ 10; MCP-1; proteína quimiotáctica de monocitos 1; TGF β -1: factor transformador del crecimiento β -1.

DISCUSION

En este estudio, encontramos gran evidencia de que el EO en el choque séptico participa y está relacionado al daño multiorgánico. Existen aún diferentes lagunas que no han podido ser resueltas y que discutiremos a través de otros autores que hicieron una aleatorización en el manejo terapéutico o evaluaron de forma sistemática a sus pacientes. En este estudio, los pacientes con choque séptico que recibieron Vit C, MT y NAC mejoraron la disfunción orgánica (medida por el puntaje de SOFA) asociado a disminución de LPO, NO₃⁻ y NO₂⁻, incremento en la CAT, el GSH y PXS. En un estudio previo (87) reportamos mejoría del SOFA en pacientes que recibieron MT y VIT C, en esta ocasión también documentamos mejoría en los pacientes con NAC probablemente por el aumento en el

poder estadístico secundario al mayor tamaño de muestra. El efecto en la disfunción orgánica en el grupo NAC puede explicarse por el incremento en el GSH y PXS.

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)**. Otro ensayo clínico sorteado y doble ciego, documento disminución estadísticamente significativa del puntaje de SOFA, días de ventilación mecánica invasiva y uso de vasopresores (98). En una revisión sistemática y metaanálisis reciente en la cual se incluyeron 10 estudios, se reportó que la administración intravenosa de Vit C se asoció con disminución estadísticamente significativa de la mortalidad a corto plazo (OR 0.51, 95% CI 0.37-0.69, $I^2 = 0\%$) y duración de vasopresores (MD -27.88, 95% CI -49.84 to -5.92, $I^2 = 95\%$) . No se encontró diferencia significativa en días de estancia hospitalaria (MD -0.68, 95% CI -2.13 to 0.78, $I^2 = 74\%$) y SOFA score (MD -0.05, 95% CI -1.69 to 1.58, $I^2 = 86\%$) probablemente debido a la gran heterogeneidad de los estudios (65).

En los mecanismos de daño en choque séptico hay participación de ERO, se ha encontrado que el O_2^- es producido por todas las células y en el paciente crítico se genera exponencialmente por los polimorfonucleares activados (100) actuando como un agente proinflamatorio. Además de reclutar neutrófilos, induce liberación de factores quimiotácticos y otros mediadores proinflamatorios, también modula señales de transducción intracelular por la activación del factor nuclear (NF)- κB y el factor 1 de choque térmico. En nuestro

estudio los pacientes que se trataron con MT encontramos una disminución significativa de marcadores inflamatorios de IL-6, IL-8 e IL-10 que pudiera explicarse por el efecto como secuestrador de O_2^- demostrado de la MT. El O_2^- ante el incremento de SOD favorece la conversión H_2O_2 , el cual, no posee electrones sin aparear, considerándose una ERO por su capacidad de inactivar enzimas, atravesar membranas celulares y reaccionar tanto con átomos de Fe como de cobre Cu para producir OH^- a través de la reacción de Fenton. En la desregulación que ocurre en el choque séptico el H_2O_2 se forma por la interacción entre O_2^- y el NO, perpetuando la acción del anión O_2^- , actuando como agente pro inflamatorio e inactivando la SOD, (100) induciendo peroxidación lipídica y produce depleción de GSH (100) (101). H_2O_2 puede generar daño sobre el ADN con depleción de NAD y ATP. En este sentido, en nuestro estudio demostramos que los pacientes tratados con MT disminuyeron significativamente la LPO y los niveles de NO_3^- y NO_2^- presentaron tendencia a disminuir sin lograr significancia estadística ($p=0.09$). Estos resultados pueden explicar la disminución de la LPO debido a la disminución de los niveles de NO evitando la interacción con O_2^- y la consecuente formación de H_2O_2 . En cuanto al GSH los niveles plasmáticos de los pacientes tratados con MT en nuestro estudio se mantuvieron, esto puede explicarse por el efecto como secuestrador directo de H_2O_2 de la MT.

En base al uso de antioxidantes, un estudio reciente de pacientes en donde se demostró EO temprano y persistente durante choque séptico, se encontró una correlación positiva entre los niveles crecientes de LPO y la gravedad de la sepsis. Los niveles de Vit C se encontraron por debajo de los valores de referencia sin tener correlación con la gravedad del choque séptico, los autores consideraron que este efecto podría ser secundario a que los pacientes podrían tener una mayor disponibilidad de otros antioxidantes no enzimáticos como el ácido úrico y la bilirrubina, los cuales pueden actuar como antioxidantes en plasma

(102) (103). En la evaluación de estos pacientes, llamo la atención que los que tenían más gravedad exhibieron niveles más altos de CAT y Vit C, la explicación a este efecto tenía correlación negativa con TBARS lo cual sugirió que la LPO puede ocurrir a pesar de que el paciente tenga CAT normal o elevada. Por lo tanto, evaluaron en los sobrevivientes de choque séptico estos parámetros encontrando que estos se normalizaron. Sin embargo, documentaron que los marcadores oxidativos de proteínas aún permanecía elevados (elevación persistente de carbonilos y el sulfóxido de metionina) considerándolo difícil de explicar y concluyendo que el periodo de seguimiento pudo ser insuficiente para alcanzar niveles normales (104). Derivado de esos hallazgos, se llevó a proponer que a futuro estos índices podrían usarse como marcadores de EO (105). Nosotros documentamos una disminución estadísticamente significativa en los niveles de LPO en los pacientes tratados con MT y una tendencia no significativa en el grupo de Vit E, estos grupos presentaron una disminución estadísticamente significativa del puntaje de SOFA lo cual puede apoyar estos hallazgos reportados previamente. Sin embargo, a diferencia de estos hallazgos nosotros encontramos un incremento estadísticamente significativo en los niveles de CAT en el grupo paciente tratados con MT y una tendencia no significativa en el grupo de Vit E.

Por otro lado, en pacientes con choque séptico es conocido que la respuesta inflamatoria puede condicionar grave disfunción endotelial y liberación de citosinas, hay además una respuesta hipermetabólica lo cual exige mayor demanda de los recursos nutritivos corporales, como el GSH (el cual es crucial en el control de la producción de ROS durante el desarrollo y progresión del choque séptico) (102). En este sentido, nosotros encontramos disminución significativa de los marcadores inflamatorios medidos por los niveles de PCT y PCR durante los cinco días de tratamiento en los pacientes a los que se les administro NAC cuando los comparamos con el grupo sin tratamiento. Esto puede estar asociado al

incremento significativo de los niveles plasmáticos de GSH secundario a la administración de NAC.

El ON se sintetiza en diferentes tejidos por medio del ONS, que durante su actividad enzimática cataliza la reacción de arginina a citrulina y produce el radical ON en una reacción oxidante en la cual participan 5 electrones. Es muy abundante y considerado una molécula que participa en muchos procesos de señalización, tales como la neurotransmisión, la regulación de la presión sanguínea, mecanismos de defensa, relajación del músculo liso y la regulación del sistema inmunitario. Tiene un tiempo de vida media corto (segundos en medio acuoso) y alta estabilidad en un sistema libre de O_2 con alta capacidad de difusión en las membranas y en el citoplasma, por lo tanto, participa en fenómenos como la transmisión neuronal, la plasticidad sináptica y en el sistema nervioso central. En el medio intracelular, el ON reacciona con el O_2 y el H_2O para formar NO_3^-/NO_2^- (106). Nosotros medimos niveles plasmáticos de NO_3^-/NO_2^- antes y después de la terapia antioxidante en los enfermos con choque séptico encontrando que los pacientes tratados con Vit C presentaron una disminución estadísticamente significativa. De igual manera, encontramos disminución significativa de los niveles de IL-6 en los pacientes del grupo de Vit C. Estos hallazgos pueden explicar la mejoría del puntaje de SOFA secundarios a mejoría en la regulación de la presión sanguínea y el efecto sobre la función inmunológica puede ser explicada por el efecto sobre el ON.

Dentro de la teoría metabólica del choque séptico en la cual existe exagerada activación de la respuesta inmune no se ha demostrado una mejora en la mortalidad y otros desenlaces a pesar de la regulación de este proceso a través de antibióticos, antiinflamatorios y otros tratamientos específicos. Una teoría postula que en el choque séptico hay acumulación generalizada de H_2O_2 generado como consecuencia del estado hipermetabólico que

acompaña a la respuesta inmune, el cual es tóxico para las células (107). También se ha demostrado, que en el estado de choque séptico existe pérdida progresiva en la homeostasis del estado redox, lo cual conlleva a inmunosupresión, coagulopatía, disfunción del metabolismo óseo y microvascular, esto se manifiesta clínicamente con hipotensión refractaria y falla orgánica múltiple (8). Al igual que estos hallazgos, no encontramos mejoría en la sobrevida en UCI y hospitalaria de los pacientes tratados con los diferentes antioxidantes. Sin embargo, encontramos una disminución estadísticamente significativa en el puntaje de SOFA en los grupos de tratamiento antioxidante comparados con el grupo que no recibió tratamiento lo cual consideramos que es clínicamente relevante. En este sentido, nuestro cálculo de tamaño de muestra no fue calculado para encontrar diferencias en la sobrevida en los diferentes grupos de tratamiento por lo que se requieren mas estudios diseñados para contestar esta pregunta.

Vit E

Se conoce que en los pacientes tratados con Vit C se regenera la Vit E, esto disminuye LPO y secuestra ERO liposolubles. En este estudio la Vit C disminuyó los niveles de LPO, NO_3^- NO_2^- y se mantuvieron los niveles de SOD. Esto permite ver como interactúa la red enzimática antioxidante, los niveles bajos de SOD pueden estar en relación con una protección contra la formación de ERO. En un estudio previo, demostramos que en pacientes con sepsis tratados con Vit E la LPO y la carbonilación tuvieron tendencia a disminuir (87). En este estudio, los pacientes que fueron tratados con Vit E disminuyeron significativamente LPO y presentaron tendencia a incrementar CAT, lo cual reproduce los hallazgos previamente publicados. Del mismo modo, este tratamiento mostro en todos los grupos disminución de SOD postratamiento, lo cual pudiera estar relacionado con el efecto que tiene esta enzima para regular el O_2^- y evitar su transformación en H_2O_2 . Otro de los

efectos encontrados postratamiento con Vit E fue el incremento de tioles y Px lo cual apoya la teoría de que su uso incrementa la CAT. Sabemos que los tioles son moléculas que contienen un grupo sulfhidrilo en la cadena lateral (SH) y que actúan como antioxidantes estabilizando los radicales libres al aceptar su electrón desapareado, esta pudiera ser una de sus vías de acción de la Vit E para mejorar la respuesta al mecanismo de daño por EO y así poder disminuir morbilidad/mortalidad en pacientes con choque séptico.

Por otro lado, la Vit E también actúa unida a la membrana celular y es el principal antioxidante capaz de prevenir y bloquear la LPO la cual se asocia a una respuesta inmune apropiada. La suplementación en pacientes con sepsis podría servir para modular la excesiva respuesta inflamatoria coordinada por los macrófagos, preservando la capacidad de respuesta ante la infección (108) (109) (110) (111) (112).

Vit C

En relación con la Vit C, el cual es un cofactor enzimático del con función antioxidante derivada de su capacidad para actuar como donante de electrones. Vit C disminuye la LPO, los niveles de O_2^- , H_2O_2 y ion hipoclorito, mantiene estables los niveles de GPx y Vit E por la participación en su reciclamiento. La Vit C se recicla a su vez desde ácido dehidroascórbico (113). Nuestros resultados muestran disminución significativa en los niveles NO_3^- y 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 $OONO^-$ en la presencia de O_2^- . Particularmente, el $ONOO^-$ 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).

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 ($<0.23 \mu\text{M}$ 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 ($21 \mu\text{M}$ Vit C) fue similar a la reportada en el CITRIS-ALI ($22 \mu\text{M}$ Vit C). Posterior a la administración de Vit C nuestros pacientes alcanzaron niveles plasmáticos a las 48 horas de $70 \mu\text{M}$ Vit C, a diferencia de los $166 \mu\text{M}$ 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.

En todos los pacientes en este estudio se encontraron niveles bajos de Vit C, sin embargo, en el grupo de pacientes que recibió Vit C se observó un incremento postratamiento de los niveles plasmáticos con significancia estadística. Además, disminuyó LPO y NO_3^- NO_2^- con tendencia a incrementar PX. En una revisión sistemática y metaanálisis de 23 ensayos clínicos, informaron que el tratamiento con Vit C se asoció con reducción de la mortalidad, del puntaje del SOFA y del uso de vasopresores en pacientes sépticos. Este efecto también se ha documentado en niños (114) (115) Este ensayo clínico aleatorizado, confirma estos hallazgos por lo que establece a la Vit C como un estándar de atención en el tratamiento del choque séptico.

NAC

La NAC es una variante acetilada de la L-cisteína que presenta actividad antioxidante a través del incremento en los niveles de GSH. Las funciones protectoras de las células frente al EO dependen en gran medida del estado redox del tiol, por lo que la disponibilidad de cisteína, el sustrato para la resíntesis de GSH en sangre es de gran importancia. En pacientes con sepsis hay agotamiento del GSH, el cual es un antioxidante endógeno lo cual conlleva al EO (116). Algunos estudios han informado que la administración de NAC podría ayudar a mantener el estado redox (117) (115) (118). En nuestro estudio, encontramos que la administración de NAC incremento significativamente los niveles de GSH sin efecto significativo en los niveles de tioles, pero con disminución significativa de la Trx. Estos hallazgos pueden explicar el efecto clínico en la disminución del SOFA. La disminución de

Trx en nuestro estudio pudiera ser secundaria a una mayor utilización de esta en este grupo de tratamiento.

Por otro lado, se ha demostrado que NAC ejerce funciones vasodilatadoras que podrían tener algún beneficio en la microcirculación en los pacientes con sepsis (119). El efecto protector de NAC en sepsis fue confirmado por Ritter et al en un modelo murino, quienes demostraron que la combinación de NAC y deferoxamina podría reducir el EO, la disfunción mitocondrial y la inflamación sistémica, disminuyendo así las consecuencias del choque séptico. Los efectos de NAC antioxidantes y antiinflamatorias, también han sido demostradas en otro modelo animal (120) y en humanos, se ha demostrado que aunado al uso de terapia estándar con antibióticos su uso reduce la mortalidad (121). Estos resultados concuerdan con nuestros hallazgos, encontramos una disminución significativa en los niveles de PCT y PCR en los pacientes que recibieron NAC comparado con el grupo sin tratamiento. En cuanto a los demás marcadores inflamatorios (IL-1 β , IL-2, IL4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p70, IL-17A, TNF- α , INF γ , IP-10, MCP-1 y TGF β -1) no encontramos diferencias significativas.

Sin embargo, todos los efectos de la terapia con NAC no han sido plenamente evaluados, en este estudio encontramos que incrementa GSH, PX y disminuye TRX con significancia estadística. En relación a estos hallazgos, sabemos que si bien las enzimas antioxidantes como SOD y catalasa que utilizan ERO como sustratos, se consumen en grandes cantidades lo cual conlleva a que la actividad de GSH-PX disminuya por lo que las ERO no pueden ser eliminadas causando daño tisular por EO (122).

En cuanto a la respuesta inflamatoria, el ON juega un papel importante en la activación y migración de glóbulos blancos y vasodilatación, esto puede estar estrechamente relacionado con el incremento en la permeabilidad vascular con consecuente afección en

la función alveolo-pulmonar capilar (123). En un modelo animal tratado con un péptido hormonal como ghrelina se documentó mejoría el estado séptico (124). De los diferentes antioxidantes utilizados en este ensayo clínico, solo Vit C tuvo efecto significativo en el ON lo cual puede explicar sus efectos en la vía inflamatoria.

NAC tiene protección antiinflamatoria, antioxidante y en los vasos sanguíneos (125). La SOD es una enzima intracelular distribuida en todo el organismo que es capaz de transformar el O_2^- en H_2O_2 , los dos tipos existentes a nivel mitocondrial son esenciales para la vida, lo cual se demostró en ratones que no sobrevivieron posterior a un knockout de SOD (126). El uso de NAC en este estudio no demostró un incremento de SOD, sin embargo, los niveles plasmáticos al igual que el Se se mantuvieron, y aunque tanto el GSH como la PX aumentaron, encontramos un claro descenso de Trx. Por lo tanto, la activación de NrF2 es un mecanismo de interés para investigar en futuros estudios.

MT

La MT es una hormona sintetizada y secretada por la glándula pineal que ha demostrado tener un papel relevante en la regulación de la actividad antioxidante, antiinflamatoria, anti nociceptiva, neuromuscular, vascular, antidepresivo, ansiolítico y en diversos órganos (127) (128) (129). Un estudio previo de nuestro grupo, el cual es uno de los primeros ensayos clínicos en tratar pacientes con choque séptico con MT, demostramos que en los pacientes tratados con MT disminuyó la LPO con significancia estadística (87). En este ensayo clínico, confirmamos los hallazgos reportados previamente. En el grupo tratado con MT la diferencia fue encontrada con significancia estadística. Otro estudio realizado en pacientes con neumonía grave y choque séptico por SARS CoV-2 encontramos descenso importante de la LPO, esto indica que la terapia con este antioxidante es un manejo a considerar dentro de la terapia estándar (130) en pacientes con choque séptico con el

objetivo de disminuir la LPO, lo cual se apoya en la reproducibilidad de los hallazgos sin importar la etiología de la enfermedad que condiciona el choque séptico.

En este estudio también documentamos incremento de Px y GPx en el grupo tratado con MT, se lograron mantener los niveles de Trx y Se con repercusión clínica demostrada por disminución del puntaje SOFA desde el primer día de tratamiento. El control de MT y de NAC en los mecanismos de acción fue discutida en el 2004 como un “matrimonio difícil” en la terapia de pacientes con choque séptico (131), sin embargo, en diversos estudios en modelo animal han demostrado que MT tiene ventajas antioxidantes adicionales en la prevención del EO (132) (133). MT posee una potente acción antioxidante protegiendo mitocondrias por daño oxidativo debido a que alcanza elevadas concentraciones a nivel mitocondrial (53) (134) así como sus metabolitos (135) (136) (137). La MT se involucra también en la vía intra-mitocondrial SIRT3;SIRT3 la cual es una histona deacetilasa de clase 3, que protege las mitocondrias del EO (138) (139). Además, la MT estimula la síntesis de otras enzimas antioxidantes, incluyendo GPx, GR, γ -glutamyl-cisteína sintetasa, glucosa-6 fosfato deshidrogenasa y catalasa (140) (141). En un modelo experimental de sepsis se ha encontrado que la MT restaura niveles de GSH (142), de igual manera reduce los niveles de expresión de malondialdehído y MPO en hígado, cerebro, pulmón, riñones y reduce la necrosis hepática en animales sépticos (143). Estos hallazgos en relación a MT confirman nuestros resultados y considerando los efectos que encontramos en los pacientes tratados con NAC (aumento GSG y Px) la utilización combinada de MT con NAC parece una estrategia prometedora en este tipo de enfermos.

En otro modelo murino de sepsis inducida por LPS la MT se demostró que disminuye disminuir niveles de del TNF- α sérico e IL-6 (144) al igual que nuestros resultados en los

cuales encontramos disminución significativa de IL-6 pero no de TNF- α . Sin embargo, también encontramos disminución significativa en los niveles de IL-8 e IL10.

En otro experimento en ratones tratados con MT se demostró un aumento de la autofagia, mecanismo que protege a los cardiomiocitos durante el EO (145) (146). En otros modelos experimentales con sepsis, MT inhibió iNOS e isoformas de mtNOS (134) (147), la inhibición de iNOS reduce los niveles de ON, lo cual previene la falla orgánica y la muerte (148). Nosotros encontramos una tendencia no significativa a disminuir los niveles plasmáticos de ON en los pacientes tratados con MT, probablemente se requiera un mayor tamaño de muestra para poder confirmar estos hallazgos.

En pacientes con sepsis críticamente enfermos los niveles séricos diurnos de MT disminuyen significativamente por lo que podemos pensar que se encuentran con depleción de melatonina (149) (150) (151) lo cual hace pensar que su administración tendrá efectos benéficos. En choque séptico, si bien los procesos inflamatorios interactúan con otros mecanismos de daño celular en donde el desequilibrio del estado redox está presente, es de relevancia mencionar que además de los cambios en marcadores inflamatorios y del EO, también documentamos en este estudio mejoría la CAT con traducción clínica en disminución del daño orgánico medido con el puntaje SOFA. En el caso de Vit C, los cambios en este sentido fueron observados desde el primer día haciéndose más evidente en el día 5 para los grupos de NAC, MT y Vit C.

Se

En diversos estudios se ha demostrado que los pacientes críticos en UCI tienen niveles plasmáticos disminuidos de Se y que estos se han correlacionado negativamente con los puntajes de gravedad (54) (152). Existen diversos factores que pueden contribuir a la disminución de los niveles de Se en pacientes graves con choque séptico. En la sepsis, el

Se escapa al compartimiento intersticial a través de la fuga capilar, por otra parte, las pérdidas de líquidos, flebotomía, malnutrición y la terapia de reemplazo renal pueden contribuir a disminuir aún más los niveles de Se (60). Hawker y colaboradores fueron de los primeros investigadores en reportar niveles disminuidos de Se en pacientes graves en UCI comparándolos con controles sanos (0.66 ± 0.21 vs $1.05 \pm 0.21 \mu\text{mol/L}$) (54). En este estudio encontramos niveles disminuidos de Se en todos los grupos, como lo publicado por otros investigadores (152) (153).

Además, el deterioro del estado nutricional podría traducirse en reducción de niveles séricos de Se y de las diferentes Se enzimas que dependen de este como son la GPx y la SePP. Estas Se proteínas cumplen un efecto protector frente a la LPO de las membranas celulares participando además en el proceso de regulación de la respuesta inflamatoria. En este trabajo si bien encontramos que los niveles de Se basales se encontraron disminuidos, el uso de los diferentes antioxidantes mantuvo los niveles de Se constantes y en los pacientes que no recibieron ningún antioxidante (grupo sin tratamiento) encontramos disminución estadísticamente significativa. Del mismo modo, observamos que en los pacientes sin terapia antioxidante el puntaje SOFA no tuvo disminución, esto hace una diferencia a considerar ya que en todos los grupos tratados no disminuyeron los niveles plasmáticos. Estos hallazgos sugieren que la terapia en estos pacientes debería incluir antioxidantes y Se, lo cual deberá estudiarse en ensayos clínicos específicos en los cuales se incluya el estado nutricional, del metabolismo óseo y gravedad.

Múltiples estudios han evaluado el efecto de la suplementación de Se en pacientes críticos. Existen importantes diferencias entre los estudios en cuanto a la vía de administración (enteral vs. parenteral), dosis (alta vs. baja), uso o no de dosis de carga y selección de

pacientes (sépticos vs no sépticos y suplementación de otros antioxidantes (monoterapia vs cocteles) (154) (155) (156) (157) (158) (159).

El manejo agregado de antioxidantes y suplementos podría ser capaz de mejorar los desenlaces optimizando el pronóstico de la enfermedad crítica. En tal sentido, algunos estudios clínicos han estudiado el número de complicaciones infecciosas y estancia hospitalaria en pacientes críticos suplementados con Se y/o antioxidantes. Hay datos concluyentes del poder terapéutico en el control de la desregulación del EO y del proceso inflamatorio (158). En nuestro estudio, documentamos disminución de la falla orgánica medida por el puntaje SOFA el cual es controlado por algunos antioxidantes desde el segundo día de tratamiento, consideramos que la suplementación de Se podría mejorar los desenlaces y que está deberá llevarse a cabo con una adecuada evaluación del estado nutricional y esto deberá estudiarse más ampliamente.

El EO y sus consecuencias como la hipoxia citopática podrían explicar el fracaso de distintas estrategias empleadas en el manejo clínico del choque séptico. Cuando la maquinaria mitocondrial está bloqueada resultan infructuosos los esfuerzos dirigidos a mejorar la oxigenación tisular con el aumento del aporte sistémico de oxígeno y/o la optimización de la función cardiovascular. Nuestros resultados demuestran como la terapia antioxidante en el tratamiento del choque séptico ha llevado a definir claramente que es posible actuar a diferentes niveles involucrados en el EO, como puede ser en la síntesis de NO, la producción de ERO/ERN o tratando de amortiguar los efectos celulares y tisulares de esta sobreproducción. Además de la evidencia experimental de que los tratamientos antioxidantes pueden generar beneficio en la sepsis por mejoría en la respiración mitocondrial y la disfunción orgánica (160). En modelos animales previos a nuestros resultados se intentó aumentar el aporte exógeno de vitaminas como son el α -tocoferol, el

β -caroteno o el ácido ascórbico (161). Sin embargo, se han realizado pocos ensayos clínicos aleatorizados como este que evalúen clínicamente el efecto benéfico antioxidante, los cuales hemos confirmado y que además tienen sustento en diversas facetas del choque séptico. En este estudio incluimos diferentes compuestos con acción antioxidante como la NAC, los cuales ya habían mostrado resultados alentadores (162).

Por otra parte, oligoelementos tales como el Se, Cu, Zn y Mn también han sido investigados sin resultados definitivos sobre posibles beneficios en pacientes críticos. Sin embargo, consideramos que con los resultados obtenidos en este estudio se ha demostrado que los pacientes tratados con antioxidantes los niveles de Se se mantienen a diferencia del descenso observado en los pacientes sin tratamiento.

En cuanto a la búsqueda de nuevas medidas terapéuticas para el manejo de la sepsis y del choque séptico se han producido algunos avances relevantes, como son: la administración oportuna de soporte nutricional, la prevención de las infecciones nosocomiales, la prevención de úlceras por estrés, la profilaxis de la trombosis venosa profunda, el uso adecuado de sedación-analgésia y el uso de modos de ventilación mecánica protectora. Estos avances han desempeñado un papel importante y podrían ser beneficiosos en algunos subgrupos de pacientes (163). Tratamientos farmacológicos más específicos que intentaron modular o bloquear algunos componentes del proceso inflamatorio no alcanzaron el éxito esperado o fracasaron. Sin embargo, los conocimientos sobre la bioquímica de la sepsis han aumentado y este estudio proporciona bases sólidas de que la terapia antioxidante adyuvante mejora condiciones ya observadas previamente en los modelos animales. Estos hallazgos abren el camino a la realización de nuevos ensayos que evalúen el uso de nuevas terapias alternativas, en donde además del EO, se deberá analizar el estrés nitrosativo, el cual es un capítulo fundamental en la patogenia de la sepsis.

La terapia moduladora de la síntesis de NO y de algunas citocinas pro-inflamatorias con el empleo de antioxidantes conlleva a plantear ensayos clínicos traslacionales similares al nuestro. La reproducibilidad de los hallazgos se podría plantear como terapias combinadas suplementarias agregadas al manejo estándar, con el objetivo de mejorar la supervivencia a través de condiciones específicas durante el desarrollo del manejo interdisciplinario. Si bien estos datos deberán ser confirmados en series mayores, se abren grandes expectativas en el tratamiento de la disfunción orgánica en la sepsis a través de la modulación o la amortiguación de la hiperproducción de los efectos causados por las ERO (164) (165).

De los resultados de este estudio quedan hipótesis y preguntas por resolver, como son: ¿cuál es la mejor combinación de fármacos antioxidantes, dosis más adecuadas y vías de administración? Se requiere mayor investigación de agentes farmacológicos que ayuden a prevenir o tratar la disfunción orgánica y condiciones clínicas asociadas al choque séptico. El avance de esta investigación deja evidencia de que NAC, MT, Vit C y Vit E muestran apoyo en la evolución y respuesta de los pacientes. Las lagunas en dosis exactas, tiempo de uso y estado sinérgico del uso combinado son áreas de oportunidad finalmente a explorar.

CONCLUSIÓN

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.

Nuestros hallazgos apoyan la terapia con antioxidantes en pacientes con choque séptico basados en mejoría demostrada en la desregulación del EO. El uso específico de MT, NAC,

VIT E y VIT C, confirma cambios específicos en biomarcadores inflamatorios y del EO con significancia estadística. Los antioxidantes agregados al manejo estándar de pacientes con choque séptico disminuyen falla orgánica y mejoran sobrevida.

Los niveles de Se en pacientes con choque séptico se encuentran disminuidos. La terapia antioxidante con Vit C, VIT E, MT y NAC mantuvo los niveles plasmáticos de Se. Consideramos que la suplementación de Se aunada a la terapia antioxidante puede mejorar los desenlaces clínicos en los pacientes con choque séptico por su efecto en el EO y la vía inflamatoria.

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.

La Vit C demostró disminuir la LPO al igual que la Vit E y la MT. 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.

Tanto la MT como la Vit E demostraron incrementar la CAT por lo que su uso combinado sería otra propuesta muy interesante que pudiera tener mayor efecto clínico en los pacientes con choque séptico.

El efecto en la disminución de NO_3^- NO_2^- que demostró el uso de MT y Vit C puede repercutir clínicamente en menor tiempo de utilización de vasopresores y consecuentemente mejoría hemodinámica, esta propuesta también debe ser estudiada en otro ensayo clínico sorteado.

El uso combinado de antioxidantes es una perspectiva a futuro, en donde, además se deberá incluir la evaluación del estado nutricional y del metabolismo óseo.

BIBLIOGRAFÍA

1. DJ. B. What is oxidative stress? *Metabolism* 2000;49:3–8.
2. Thannickal VJ FB. Reactive oxygen species in cell signaling. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2000;279:L1005-1028.
3. Gebicki JM. Oxidative stress, free radicals and protein peroxides. *Arch Biochem Biophys* 2016;595:33–39.
4. Ramana K V., Srivastava S, Singhal SS. Lipid Peroxidation Products in Human Health and Disease 2016. *Oxid Med Cell Longev* 2017;2017:2163285. Available at: <https://researchexperts.utmb.edu/en/publications/lipid-peroxidation-products-in-human-health-and-disease-2016>. Accessed August 9, 2022.
5. Dizdaroglu M, Jaruga P. Mechanisms of free radical-induced damage to DNA. *Free Radic Res* 2012;46:382–419. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22276778/>. Accessed August 9, 2022.

6. Kaminsky VO, Zhivotovsky B. Free radicals in cross talk between autophagy and apoptosis. *Antioxid Redox Signal* 2014;21:86–102. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24359220/>. Accessed August 9, 2022.
7. Knight JA. Review: Free radicals, antioxidants, and the immune system. *Ann Clin Lab Sci* 2000;30:145–158.
8. Pisoschi AM, Pop A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *Eur J Med Chem* 2015;97:55–74. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25942353/>. Accessed August 25, 2022.
9. Cadenas E, Sies H. The lag phase. *Free Radic Res* 1998;28:601–609. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9736312/>. Accessed September 13, 2022.
10. Chuong Nguyen MV, Lardy B, Paclet MH, Rousset F, Berthier S, Baillet A, et al. [NADPH oxidases, Nox: new isoenzymes family]. *Med Sci (Paris)* 2015;31:43–52. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25658730/>. Accessed August 9, 2022.
11. Bogdan C. Nitric oxide and the immune response. *Nat Immunol* 2001 210 2001;2:907–916. Available at: <https://www.nature.com/articles/ni1001-907>. Accessed August 9, 2022.
12. Yang CS, Ho CT, Zhang J, Wan X, Zhang K, Lim J. Antioxidants: Differing Meanings in Food Science and Health Science. *J Agric Food Chem* 2018;66:3063–3068. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29526101/>. Accessed August 10, 2022.
13. Gutteridge JMC. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem* 1995;41:1819–1828. Available at: <https://academic.oup.com/clinchem/article/41/12/1819/5646128>. Accessed August 24, 2022.

14. Brigelius-Flohé R, Maiorino M. Glutathione peroxidases. *Biochim Biophys Acta* 2013;1830:3289–3303. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23201771/>. Accessed August 10, 2022.
15. Formigari A, Irato P, Santon A. Zinc, antioxidant systems and metallothionein in metal mediated-apoptosis: Biochemical and cytochemical aspects. *Comp Biochem Physiol - C Toxicol Pharmacol* 2007;146:443–459. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17716951/>. Accessed August 12, 2022.
16. Glorieux C, Zamocky M, Sandoval JM, Verrax J, Calderon PB. Regulation of catalase expression in healthy and cancerous cells. *Free Radic Biol Med* 2015;87:84–97. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26117330/>. Accessed August 10, 2022.
17. Demarche P, Junghanns C, Nair RR, Agathos SN. Harnessing the power of enzymes for environmental stewardship. *Biotechnol Adv* 2012;30:933–953. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0734975011000681>.
18. Koua D, Cerutti L, Falquet L, Sigrist CJA, Theiler G, Hulo N, et al. PeroxiBase: a database with new tools for peroxidase family classification. *Nucleic Acids Res* 2009;37:D261–D266. Available at: <https://academic.oup.com/nar/article-lookup/doi/10.1093/nar/gkn680>.
19. Fernandes M, Souza DH, Henriques RO, Alves MV, Skoronski E, Junior AF. Obtaining soybean peroxidase from soybean hulls and its application for detoxification of 2,4-dichlorophenol contaminated water. *J Environ Chem Eng* 2020;8:103786. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2213343720301342>.
20. Poole LB. The basics of thiols and cysteines in redox biology and chemistry. *Free*

Radic Biol Med 2015;80:148–157. Available at:

<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0891584914013768>.

21. Arnér ESJ, Holmgren A. Physiological functions of thioredoxin and thioredoxin reductase. *Eur J Biochem* 2000;267:6102–6109. Available at:

<http://doi.wiley.com/10.1046/j.1432-1327.2000.01701.x>.

22. Couturier J, Przybyla-Toscano J, Roret T, Didierjean C, Rouhier N. The roles of glutaredoxins ligating Fe–S clusters: Sensing, transfer or repair functions? *Biochim Biophys Acta - Mol Cell Res* 2015;1853:1513–1527. Available at:

<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167488914003437>.

23. Christians ES, Benjamin IJ. Proteostasis and REDOX state in the heart. *Am J Physiol Circ Physiol* 2012;302:H24–H37. Available at:

<https://www.physiology.org/doi/10.1152/ajpheart.00903.2011>.

24. Lèveillard T, Aït-Ali N. Cell Signaling with Extracellular Thioredoxin and Thioredoxin-Like Proteins: Insight into Their Mechanisms of Action. *Oxid Med Cell Longev* 2017;2017. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29138681/>. Accessed August 12, 2022.

25. Mustacich D, Powis G. *Thioredoxin reductase*.; 2000.

26. 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;29:1303–1310.

27. Singer M, Deutschman CS, Seymour C, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, et al.

The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (sepsis-3). *JAMA - J Am Med Assoc* 2016;315:801–810.

28. Shankar-Hari M, Phillips GS, Levy ML, Seymour CW, Liu VX, Deutschman CS, et al. 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 - J Am Med Assoc* 2016;315:775–787.
29. Seymour CW, Liu VX, Iwashyna TJ, Brunkhorst FM, Rea TD, Scherag A, et al. Assessment of clinical criteria for sepsis for the third international consensus definitions for sepsis and septic shock (sepsis-3). *JAMA - J Am Med Assoc* 2016;315:762–774.
30. Marshall JG, Vincent JL, Guyatt G, Angus DC, Abraham E, Bernard G, et al. Outcome measures for clinical research in sepsis: A report of the 2nd Cambridge Colloquium of the International Sepsis Forum. *Crit Care Med* 2005;33:1708–1716.
31. Crimi E, Sica V, Williams-Ignarro S, Zhang H, Slutsky AS, Ignarro LJ, et al. The role of oxidative stress in adult critical care. *Free Radic Biol Med* 2006;40:398–406. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16443154/>. Accessed September 13, 2022.
32. Volk T, Kox WJ. Endothelium function in sepsis. *Inflamm Res* 2000;49:185–198. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10893041/>. Accessed September 13, 2022.
33. Bernal ME, Varon J, Acosta P, Montagnier L. Oxidative stress in critical care medicine. *Int J Clin Pract* 2010;64:1480–1488. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20846195/>. Accessed September 13, 2022.
34. Callahan LA, Stofan DA, Szweda LI, Nethery DE, Supinski GS. Free radicals alter maximal diaphragmatic mitochondrial oxygen consumption in endotoxin-induced sepsis. *Free Radic Biol Med* 2001;30:129–138. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11134903/>. Accessed September 13, 2022.

35. Svistunenko DA, Davies N, Brealey D, Singer M, Cooper CE. Mitochondrial dysfunction in patients with severe sepsis: an EPR interrogation of individual respiratory chain components. *Biochim Biophys Acta* 2006;1757:262–272. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16626626/>. Accessed September 13, 2022.
36. Salvemini D, Cuzzocrea S. Oxidative stress in septic shock and disseminated intravascular coagulation. *Free Radic Biol Med* 2002;33:1173–1185. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12398925/>. Accessed September 13, 2022.
37. Macarthur H, Westfall TC, Riley DP, Misko TP, Salvemini D. Inactivation of catecholamines by superoxide gives new insights on the pathogenesis of septic shock. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000;97:9753–9758. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10944234/>. Accessed September 13, 2022.
38. Motoyama T, Okamoto K, Kukita I, Hamaguchi M, Kinoshita Y, Ogawa H. Possible role of increased oxidant stress in multiple organ failure after systemic inflammatory response syndrome. *Crit Care Med* 2003;31:1048–1052. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12682471/>. Accessed September 13, 2022.
39. Luchtemberg MN, Petronilho F, Constantino L, Gelain DP, Andrades M, Ritter C, et al. Xanthine oxidase activity in patients with sepsis. *Clin Biochem* 2008;41:1186–1190. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18775690/>. Accessed September 13, 2022.
40. Parratt JR. Nitric oxide. A key mediator in sepsis and endotoxaemia? *J Physiol Pharmacol* 1997;48:493–506. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9444603>.
41. Kumar H, Kawai T, Akira S. Pathogen recognition by the innate immune system. *Int Rev Immunol* 2011;30:16–34. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21235323/>.

Accessed September 13, 2022.

42. Medzhitov R. Origin and physiological roles of inflammation. *Nature* 2008;454:428–435. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18650913/>. Accessed September 13, 2022.

43. Cuzzocrea S, Riley DP, Caputi AP, Salvemini D. Antioxidant therapy: a new pharmacological approach in shock, inflammation, and ischemia/reperfusion injury. *Pharmacol Rev* 2001;53:135–59. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11171943>.

44. Phelps DT, Ferro TJ, Higgins PJ, Shankar R, Parker DM, Johnson A. TNF-alpha induces peroxynitrite-mediated depletion of lung endothelial glutathione via protein kinase C. *Am J Physiol Cell Mol Physiol* 1995;269:L551–L559. Available at: <https://www.physiology.org/doi/10.1152/ajplung.1995.269.4.L551>.

45. Rahman I, Biswas SK. Non-invasive biomarkers of oxidative stress: reproducibility and methodological issues. *Redox Rep* 2004;9:125–143. Available at: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1179/135100004225005219>.

46. Cadenas E. Basic mechanisms of antioxidant activity. *BioFactors* 1997;6:391–397. Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/biof.5520060404>.

47. Sotoudeh R, Hadjzadeh M-A-R, 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 phytomedicine* 2019;9:454–464.

48. Russell JA. Management of sepsis. *N Engl J Med* 2006;355:1699–1713.

49. 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.
50. Chalupsky K, Lobysheva I, Nepveu F, Gadea I, Beranova P, Entlicher G, et al. Relaxant effect of oxime derivatives in isolated rat aorta: Role of nitric oxide (NO) formation in smooth muscle. *Biochem Pharmacol* 2004;67:1203–1214.
51. Clapp BR, Hingorani AD, Kharbanda RK, Mohamed-Ali V, Stephens JW, Vallance P, et al. Inflammation-induced endothelial dysfunction involves reduced nitric oxide bioavailability and increased oxidant stress. *Cardiovasc Res* 2004;64:172–178.
52. Hardy G, Hardy I, Manzanares W. Selenium supplementation in the critically ill. *Nutr Clin Pract* 2012.
53. Burk RF. Selenium, an antioxidant nutrient. *Nutr Clin Care* 2002.
54. Hawker FH, Stewart PM, Snitch PJ. Effects of acute illness on selenium homeostasis. *Crit Care Med* 1990.
55. Forceville X. Effects of high doses of selenium, as sodium selenite, in septic shock patients a placebo-controlled, randomized, double-blind, multi-center phase II study - Selenium and sepsis. *J Trace Elem Med Biol* 2007;21:62–65.
56. Manzanares W, Langlois PL, Heyland DK. Pharmaconutrition with selenium in critically ill patients: What do we know? *Nutr Clin Pract* 2015;30:34–43.
57. Forceville X, Mostert V, Pierantoni A, Vitoux D, Toumelin P Le, Plouvier E, et al. Selenoprotein P, rather than glutathione peroxidase, as a potential marker of septic shock

and related syndromes. *Eur Surg Res* 2009;43:338–347.

58. Vincent JL, Forceville X. Critically elucidating the role of selenium. *Curr Opin Anaesthesiol* 2008;21:148–154.

59. Stefanowicz FA, Talwar D, O'Reilly DSJ, Dickinson N, Atkinson J, Hursthouse AS, et al. Erythrocyte selenium concentration as a marker of selenium status. *Clin Nutr* 2013;32:837–842.

60. Hardy G, Hardy I MW. Selenium supplementation in the critically ill. *Nutr Clin Pr* 2012;27:21–23.

61. Rech M, To L, Tovbin A, Smoot T, Mlynarek M. Heavy metal in the intensive care unit: A review of current literature on trace element supplementation in critically ill patients. *Nutr Clin Pract* 2014;29:78–89.

62. Winkler BS. In vitro oxidation of ascorbic acid and its prevention by GSH. *BBA - Gen Subj* 1987;925:258–264.

63. Victor VM, Rocha M, La Fuente M De. Immune cells: Free radicals and antioxidants in sepsis. *Int Immunopharmacol* 2004;4:327–347.

64. Aydogan S, Betul Yerer M, Goktas A. Melatonin and nitric oxide. *J Endocrinol Invest* 2006;29:281–287.

65. Reiter RJ, Tan D-X, Terron MP, Flores LJ, Czarnocki Z. *Melatonin and its metabolites: new findings regarding their production and their radical scavenging actions.*; 2007.

66. Escames G, Guerrero JM, Reiter RJ, Garcia JJ, Munoz-Hoyos A, Ortiz GG, et al. Melatonin and vitamin E limit nitric oxide-induced lipid peroxidation in rat brain

homogenates. *Neurosci Lett* 1997;230:147–150.

67. García JJ, Reiter RJ, Guerrero JM, Escames G, Yu BP, Oh CS, et al. Melatonin prevents changes in microsomal membrane fluidity during induced lipid peroxidation. *FEBS Lett* 1997;408:297–300.

68. Martin GS, Mannino DM, Eaton S, Moss M. The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. *N Engl J Med* 2003;348:1546–1554.

69. Martín M, Macías M, Escames G, León J, Acuña-Castroviejo D. Melatonin but not vitamins C and E maintains glutathione homeostasis in t-butyl hydroperoxide-induced mitochondrial oxidative stress. *FASEB J* 2000;14:1677–1679.

70. Urata Y, Honma S, Goto S, Todoroki S, Iida T, Cho S, et al. Melatonin induces γ -glutamylcysteine synthetase mediated by activator protein-1 in human vascular endothelial cells. *Free Radic Biol Med* 1999;27:838–847.

71. Sewerynek E, Melchiorri D, Chen L, Reiter RJ. Melatonin reduces both basal and bacterial lipopolysaccharide-induced lipid peroxidation in vitro. *Free Radic Biol Med* 1995;19:903–909.

72. Karbownik M, Reiter RJ, Garcia JJ, Tan DX, Qi W, Manchester LC. Melatonin reduces rat hepatic macromolecular damage due to oxidative stress caused by δ -aminolevulinic acid. *Biochim Biophys Acta - Gen Subj* 2000;1523:140–146.

73. Kiefer P, Vogt J, Radermacher P. From mucolytic to antioxidant and liver protection: New aspects in the intensive care unit career of N-acetylcysteine. *Crit Care Med* 2000;28:3935–3936. Available at: <http://journals.lww.com/00003246-200012000-00037>.

74. 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;6:593–597. Available at:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/089158498990066X>.
75. Schmidt H, Schmidt W, Muller T, Bohrer H, Gebhard MM, Martin E. N-acetylcysteine attenuates endotoxin-induced leukocyte-endothelial cell adhesion and macromolecular leakage in vivo. *Crit Care Med* 1997;25:858–863. Available at:
<http://journals.lww.com/00003246-199705000-00023>.
76. Schmidt W, Walther A, Martin E, Schmidt H, Gebhard MM. Influence of N-acetylcysteine treatment on endotoxin-induced microcirculatory disturbances. *Intensive Care Med* 1998;24:967–972. Available at:
<http://link.springer.com/10.1007/s001340050697>.
77. Berger MM. Vitamin C Requirements in Parenteral Nutrition. *Gastroenterology* 2009;137:S70–S78. Available at:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0016508509014486>.
78. May JM, Harrison FE. Role of Vitamin C in the Function of the Vascular Endothelium. *Antioxid Redox Signal* 2013;19:2068–2083. Available at:
<http://www.liebertpub.com/doi/10.1089/ars.2013.5205>.
79. Berger MM, Oudemans-van Straaten HM. Vitamin C supplementation in the critically ill patient. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2015;18:193–201. Available at:
<http://journals.lww.com/00075197-201503000-00014>.
80. Traber MG, Atkinson J. Vitamin E, antioxidant and nothing more. *Free Radic Biol Med*

2007;43:4–15.

81. Bosmann M, Ward PA. The inflammatory response in sepsis. *Trends Immunol* 2013;34:129–136. Available at:

<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1471490612001627>.

82. Anon. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. INEGI.

83. Bras M Le, Clément M V., Pervaiz S, Brenner C. Reactive oxygen species and the mitochondrial signaling pathway of cell death. *Histol Histopathol* 2005;20:205–220.

Available at:

https://www.researchgate.net/publication/8150138_Reactive_oxygen_species_and_the_mitochondrial_signaling_pathway_of_cell_death. Accessed September 13, 2022.

84. Apel K, Hirt H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annu Rev Plant Biol* 2004;55:373–399. Available at:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15377225/>. Accessed September 13, 2022.

85. Berger MM, Chioldo RL. Antioxidant supplementation in sepsis and systemic inflammatory response syndrome. In: *Critical Care Medicine*. Vol 35. Crit Care Med; 2007.

86. Koekkoek WAC, Zanten ARH Van. Antioxidant Vitamins and Trace Elements in Critical Illness. *Nutr Clin Pract* 2016;31:457–474.

87. Aisa-Alvarez A, Soto ME, Guarner-Lans V, Camarena-Alejo G, Franco-Granillo J, Martínez-Rodríguez EA, et al. Usefulness of antioxidants as adjuvant therapy for septic shock: A randomized clinical trial. *Med* 2020.

88. Fisher BJ, Kraskauskas D, Martin EJ, Farkas D, Puri P, Massey HD, et al. Attenuation

of Sepsis-Induced Organ Injury in Mice by Vitamin C. 2014.

89. 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;151:1229–1238.

90. Fowler AA, Syed AA, Knowlson S, Sculthorpe R, Farthing D, DeWilde C, et al. Phase I safety trial of intravenous ascorbic acid in patients with severe sepsis. *J Transl Med* 2014;12.

91. Durant R, Klouche K, Delbosc S, Morena M, Amigues L, Beraud JJ, et al. Superoxide anion overproduction in sepsis: Effects of vitamin E and simvastatin. *Shock* 2004;22:34–39.

92. Pérez-Torres I, Roque P, Hafidi M El, Diaz-Diaz E, Baños G. Association of renal damage and oxidative stress in a rat model of metabolic syndrome. Influence of gender. *Free Radic Res* 2009;43:761–771.

93. Flohé L, Günzler WA. [12] Assays of Glutathione Peroxidase. *Methods Enzymol* 1984;105:114–120.

94. Soto ME, Soria-castro E, Lans VG, Ontiveros EM, Iván B, Mejía H, et al. Analysis of Oxidative Stress Enzymes and Structural and Functional Proteins on Human Aortic Tissue from Different Aortopathies. 2014;2014.

95. Chen CN, Pan SM. Assay of superoxide dismutase activity by combining electrophoresis and densitometry. *Bot Bull Acad Sin* 1996;37:107–111. Available at: <https://ejournal.sinica.edu.tw/bbas/content/1996/2/bot372-03.html>. Accessed July 12, 2022.

96. A. Holmgren and M. Björnstedt. No Title. *Methods Enzymol* 1995;252:199–208.
97. Soto ME, Manzano-Pech LG, Guarner-Lans V, Díaz-Galindo JA, Vásquez X, Castrejón-Tellez V, et al. Oxidant/Antioxidant Profile in the Thoracic Aneurysm of Patients with the Loeys-Dietz Syndrome. *Oxid Med Cell Longev* 2020;2020. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32273946/>. Accessed May 26, 2021.
98. Mahmoodpoor A, Shadvar K, Sanaie S, Hadipoor MR, Pourmoghaddam MA, Saghaleini SH. Effect of Vitamin C on mortality of critically ill patients with severe pneumonia in intensive care unit: a preliminary study. *BMC Infect Dis* 2021;21. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34187382/>. Accessed September 12, 2022.
99. Zhu H, Xu X, Zhang K, Ye Q. The effect of intravenous vitamin C on clinical outcomes in patients with sepsis or septic shock: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Front Nutr* 2022;9. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35967816/>. Accessed September 12, 2022.
100. Szabó C, Cuzzocrea S, Zingarelli B, O'Connor M, Salzman AL. Endothelial dysfunction in a rat model of endotoxic shock. Importance of the activation of poly (ADP-ribose) synthetase by peroxynitrite. *J Clin Invest* 1997;100:723. Available at: </pmc/articles/PMC508242/?report=abstract>. Accessed September 12, 2022.
101. Cuzzocrea S, Zingarelli B, Caputi AP. Role of peroxynitrite and poly (ADP-ribosyl) synthetase activation in cardiovascular derangement induced by zymosan in the rat. *Life Sci* 1998;63:923–933.
102. Waring WS, Convery A, Mishra V, Shenkin A, Webb DJ, Maxwell SRJ. Uric acid reduces exercise-induced oxidative stress in healthy adults. *Clin Sci (Lond)* 2003;105:425–

430. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12801243/>. Accessed September 13, 2022.

103. Erario MA, Gonzales S, Noriega GO, Tomaro ML. Bilirubin and ferritin as protectors against hemin-induced oxidative stress in rat liver. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)* 2002;48:877–84. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12699246>.

104. Moskovitz J. Methionine sulfoxide reductases: ubiquitous enzymes involved in antioxidant defense, protein regulation, and prevention of aging-associated diseases. *Biochim Biophys Acta* 2005;1703:213–219. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15680229/>. Accessed September 13, 2022.

105. Andresen M, Regueira T, Bruhn A, Perez D, Strobel P, Dougnac A, et al. Lipoperoxidation and protein oxidative damage exhibit different kinetics during septic shock. *Mediators Inflamm* 2008;2008:168652. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18566692>.

106. Duma D, Fernandes D, Bonini MG, Stadler K, Mason RP, Assreuy J. NOS-1-derived NO is an essential triggering signal for the development of systemic inflammatory responses. *Eur J Pharmacol* 2011;668:285–292. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21651902/>. Accessed September 13, 2022.

107. Pravda J. Metabolic theory of septic shock. *World J Crit care Med* 2014;3:45. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24892019/>. Accessed September 13, 2022.

108. Galli F. Vitamin C, vitamin E and immune response. *J Nutr Biochem* 2005;16:257. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S095528630500032X>.

109. Bergman M, Salman H, Djaldetti M, Fish L, Punskey I, Bessler H. In vitro immune

response of human peripheral blood cells to vitamins C and E. *J Nutr Biochem*

2004;15:45–50. Available at:

<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0955286303001694>.

110. Liu A-S, Pan X, Hu D-J. [Study on the level of peroxidation in tunnel workers and protective effect of orally vitamin C and vitamin E]. *Zhonghua Lao Dong Wei Sheng Zhi Ye Bing Za Zhi* 2005;23:210–1. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16124902>.

111. GUNNEY M, ORAL B, TAKE G, GIRAY S, MUNGAN T. Effect of fluoride intoxication on endometrial apoptosis and lipid peroxidation in rats: Role of vitamins E and C.

Toxicology 2007;231:215–223. Available at:

<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0300483X06007360>.

112. Matkovics A. [Recent changes in concepts of antioxidant treatment]. *Orv Hetil*

2006;147:747–52. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16711261>.

113. Leyane TS, Jere SW, Houreld NN. Oxidative Stress in Ageing and Chronic Degenerative Pathologies: Molecular Mechanisms Involved in Counteracting Oxidative Stress and Chronic Inflammation. *Int J Mol Sci* 2022;23:7273. Available at:

<https://www.mdpi.com/1422-0067/23/13/7273>.

114. Stark RJ. Endothelial-Dependent Responses Correlate with Pediatric SOFA Scores During Severe Sepsis and Septic Shock. *J Cardiovasc Transl Res* 2022. Available at:

<https://link.springer.com/10.1007/s12265-021-10202-z>.

115. Erol G, Kartal H, Comu FM, Cetin E, Demirdas E, Sicim H, et al. Effects of N-Acetylcysteine and N-Acetylcysteine Amide on Erythrocyte Deformability and Oxidative Stress in a Rat Model of Lower Extremity Ischemia-Reperfusion Injury. *Cardiol Res Pract*

2020;2020:6841835. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33062321>.

116. Huet O, Cherreau C, Nicco C, Dupic L, Conti M, Borderie D, et al. Pivotal role of glutathione depletion in plasma-induced endothelial oxidative stress during sepsis. *Crit Care Med* 2008;36:2328–34. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18664787>.

117. Ortolani O, Conti A, Gaudio AR De, Moraldi E, Cantini Q, Novelli G. The effect of glutathione and N-acetylcysteine on lipoperoxidative damage in patients with early septic shock. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161:1907–11. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10852765>.

118. Zhang H, Spapen H, Nguyen DN, Rogiers P, Bakker J, Vincent JL. Effects of N-acetyl-L-cysteine on regional blood flow during endotoxic shock. *Eur Surg Res* 1995;27:292–300. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7589000>.

119. Ince C, Mayeux PR, Nguyen T, Gomez H, Kellum JA, Ospina-Tascón GA, et al. The Endothelium in Sepsis. *Shock* 2016;45:259–270. Available at: <https://journals.lww.com/00024382-201603000-00005>.

120. Ergin B, Guerci P, Zafrani L, Nocken F, Kandil A, Gurel-Gurevin E, et al. Effects of N-acetylcysteine (NAC) supplementation in resuscitation fluids on renal microcirculatory oxygenation, inflammation, and function in a rat model of endotoxemia. *Intensive Care Med Exp* 2016;4:29. Available at: <http://icm-experimental.springeropen.com/articles/10.1186/s40635-016-0106-1>.

121. Oliva A, Bianchi A, Russo A, Ceccarelli G, Cancelli F, Aloj F, et al. Effect of N-Acetylcysteine Administration on 30-Day Mortality in Critically Ill Patients with Septic Shock Caused by Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* and *Acinetobacter baumannii*: A

Retrospective Case-Control Study. *Antibiotics* 2021;10:271. Available at:

<https://www.mdpi.com/2079-6382/10/3/271>.

122. Jiang J, Huang K, Xu S, Garcia JGN, Wang C, Cai H. Targeting NOX4 alleviates sepsis-induced acute lung injury via attenuation of redox-sensitive activation of

CaMKII/ERK1/2/MLCK and endothelial cell barrier dysfunction. *Redox Biol*

2020;36:101638. Available at:

<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2213231720308430>.

123. Liu X-W, Ma T, Cai Q, Wang L, Song H-W, Liu Z. Elevation of Serum PARK7 and IL-8 Levels Is Associated With Acute Lung Injury in Patients With Severe Sepsis/Septic

Shock. *J Intensive Care Med* 2019;34:662–668. Available at:

<http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0885066617709689>.

124. Zeng M, He W, Li L, Li B, Luo L, Huang X, et al. Ghrelin Attenuates Sepsis-

Associated Acute Lung Injury Oxidative Stress in Rats. *Inflammation* 2015;38:683–690.

Available at: <http://link.springer.com/10.1007/s10753-014-9977-z>.

125. Rendell R, Fairhall S, Graham S, Rutter S, Auton P, Smith A, et al. Assessment of N-acetylcysteine as a therapy for phosgene-induced acute lung injury. *Toxicol Lett*

2018;290:145–152. Available at:

<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378427418301127>.

126. Bayne A-C V., Sohal RS. Effects of superoxide dismutase/catalase mimetics on life span and oxidative stress resistance in the housefly, *Musca domestica*. *Free Radic Biol*

Med 2002;32:1229–1234. Available at:

<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0891584902008493>.

127. Nowak JZ, Zawilska JB. Melatonin and its physiological and therapeutic properties. *Pharm World Sci* 1998;20:18–27. Available at:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9536467>.
128. Mahi-Birjand M, Yaghoubi S, Abdollahpour-Alitappeh M, Keshtkaran Z, Bagheri N, Pirouzi A, et al. Protective effects of pharmacological agents against aminoglycoside-induced nephrotoxicity: A systematic review. *Expert Opin Drug Saf* 2020;19:167–186. Available at: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/14740338.2020.1712357>.
129. Maharaj DS, Glass BD, Daya S. Melatonin: New Places in Therapy. *Biosci Rep* 2007;27:299–320. Available at:
https://www.academia.edu/7469982/Melatonin_New_Places_in_Therapy. Accessed September 14, 2022.
130. Chavarría AP, Vázquez RRV, Cherit JGD, Bello HH, Suastegui HC, Moreno-Castañeda L, et al. Antioxidants and pentoxifylline as coadjuvant measures to standard therapy to improve prognosis of patients with pneumonia by COVID-19. *Comput Struct Biotechnol J* 2021;19:1379–1390. Available at:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33680348/>. Accessed September 13, 2022.
131. Spapen H. N-acetylcysteine in clinical sepsis: a difficult marriage. *Crit Care* 2004;8:229–30. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15312203>.
132. Rubio-Gayosso I, Platts SH, Duling BR. Reactive oxygen species mediate modification of glycocalyx during ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol Circ Physiol* 2006;290:H2247–H2256. Available at:
<https://www.physiology.org/doi/10.1152/ajpheart.00796.2005>.

133. Tan D-X, Manchester LC, Terron MP, Flores LJ, Reiter RJ. One molecule, many derivatives: A never-ending interaction of melatonin with reactive oxygen and nitrogen species? *J Pineal Res* 2007;42:28–42. Available at:
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1600-079X.2006.00407.x>.
134. Martín M, Macías M, Escames G, León J, Acuña-Castroviejo D. Melatonin but not vitamins C and E maintains glutathione homeostasis in t-butyl hydroperoxide-induced mitochondrial oxidative stress. *FASEB J* 2000;14:1677–1679. Available at:
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1096/fj.99-0865fje>.
135. Tan D-X, Manchester L, Esteban-Zubero E, Zhou Z, Reiter R. Melatonin as a Potent and Inducible Endogenous Antioxidant: Synthesis and Metabolism. *Molecules* 2015;20:18886–18906. Available at: <http://www.mdpi.com/1420-3049/20/10/18886>.
136. Reiter RJ, Tan D, Mayo JC, Sainz RM, Lopez-Burillo S. Melatonin, Longevity and Health in the Aged: An Assessment. *Free Radic Res* 2002;36:1323–1329. Available at:
<http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/1071576021000038504>.
137. Galano A, Tan DX, Reiter RJ. On the free radical scavenging activities of melatonin's metabolites, AFMK and AMK. *J Pineal Res* 2013;54:245–257. Available at:
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jpi.12010>.
138. Chen Y, Qing W, Sun M, Lv L, Guo D, Jiang Y. Melatonin protects hepatocytes against bile acid-induced mitochondrial oxidative stress via the AMPK-SIRT3-SOD2 pathway. *Free Radic Res* 2015;49:1275–1284. Available at:
<http://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/10715762.2015.1067806>.
139. Pi H, Xu S, Reiter RJ, Guo P, Zhang L, Li Y, et al. SIRT3-SOD2-mROS-dependent

autophagy in cadmium-induced hepatotoxicity and salvage by melatonin. *Autophagy* 2015;11:1037–1051. Available at:

<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/15548627.2015.1052208>.

140. PANDIPERUMAL S, TRAKHT I, SRINIVASAN V, SPENCE D, MAESTRONI G, ZISAPEL N, et al. Physiological effects of melatonin: Role of melatonin receptors and signal transduction pathways. *Prog Neurobiol* 2008;85:335–353. Available at:

<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0301008208000348>.

141. Reiter RJ. Interactions of the pineal hormone melatonin with oxygen-centered free radicals: a brief review. *Brazilian J Med Biol Res = Rev Bras Pesqui medicas e Biol* 1993;26:1141–55. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8136717>.

142. Sewerynek E, Abe M, Reiter RJ, Barlow-Walden LR, Chen L, McCabe TJ, et al. Melatonin administration prevents lipopolysaccharide-induced oxidative damage in phenobarbital-treated animals. *J Cell Biochem* 1995;58:436–444. Available at:

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jcb.240580406>.

143. Şener G, Toklu H, Kapucu C, Ercan F, Erkanlı G, Kaçmaz A, et al. Melatonin Protects Against Oxidative Organ Injury in a Rat Model of Sepsis. *Surg Today* 2004;35:52–59.

Available at: <http://link.springer.com/10.1007/s00595-004-2879-1>.

144. Zhang J, Wang L, Xie W, Hu S, Zhou H, Zhu P, et al. Melatonin attenuates ER stress and mitochondrial damage in septic cardiomyopathy: A new mechanism involving BAP31 upregulation and MAPK-ERK pathway. *J Cell Physiol* 2020;235:2847–2856. Available at:

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jcp.29190>.

145. Doherty J, Baehrecke EH. Life, death and autophagy. *Nat Cell Biol* 2018 2010

2018;20:1110–1117. Available at: <https://www.nature.com/articles/s41556-018-0201-5>.

Accessed September 14, 2022.

146. Hsieh C-H, Pai P-Y, Hsueh H-W, Yuan S-S, Hsieh Y-C. Complete Induction of Autophagy Is Essential for Cardioprotection in Sepsis. *Ann Surg* 2011;253:1190–1200.

Available at: <https://journals.lww.com/00000658-201106000-00022>.

147. Escames G, León J, Macías M, Khaldy H, Acuña-Castroviejo D. Melatonin counteracts lipopolysaccharide-induced expression and activity of mitochondrial nitric oxide synthase in rats. *FASEB J* 2003;17:1–22. Available at:

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1096/fj.02-0692fje>.

148. Crespo E, Macías M, Pozo D, Escames G, Martín M, Vives F, et al. Melatonin inhibits expression of the inducible NO synthase II in liver and lung and prevents endotoxemia in lipopolysaccharide-induced multiple organ dysfunction syndrome in rats. *FASEB J*

1999;13:1537–46. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10463945>.

149. Mundigler G, Delle-Karth G, Koreny M, Zehetgruber M, Steindl-Munda P, Marktl W, et al. Impaired circadian rhythm of melatonin secretion in sedated critically ill patients with severe sepsis*.

Crit Care Med 2002;30:536–540. Available at:

<http://journals.lww.com/00003246-200203000-00007>.

150. Olofsson K, Alling C, Lundberg D, Malmros C. Abolished circadian rhythm of melatonin secretion in sedated and artificially ventilated intensive care patients. *Acta Anaesthesiol Scand* 2004;48:679–684. Available at:

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.0001-5172.2004.00401.x>.

151. Shilo L, Dagan Y, Smorjick Y, Weinberg U, Dolev S, Komptel B, et al. Patients in the

Intensive Care Unit Suffer from Severe Lack of Sleep Associated with Loss of Normal Melatonin Secretion Pattern. *Am J Med Sci* 1999;317:278. Available at: <http://content.wkhealth.com/linkback/openurl?sid=WKPTLP:landingpage&an=00000441-199905000-00002>.

152. Forceville X, Vitoux D, Gauzit R, Combes A, Lahilaire P, Chappuis P. Selenium, systemic immune response syndrome, sepsis, and outcome in critically ill patients. *Crit Care Med* 1998;26:1536–1544. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9751590/>. Accessed September 13, 2022.

153. Jang JY, Shim H, Lee SH, Lee JG. Serum selenium and zinc levels in critically ill surgical patients. *J Crit Care* 2014;29:317.e5-317.e8. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S088394411300470X>.

154. Alhazzani W, Jacobi J, Sindi A, Hartog C, Reinhart K, Kokkoris S, et al. The Effect of Selenium Therapy on Mortality in Patients With Sepsis Syndrome. *Crit Care Med* 2013;41:1555–1564. Available at: <http://journals.lww.com/00003246-201306000-00020>.

155. Huang T-S, Shyu Y-C, Chen H-Y, Lin L-M, Lo C-Y, Yuan S-S, et al. Effect of Parenteral Selenium Supplementation in Critically Ill Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis. Berthold HK, ed. *PLoS One* 2013;8:e54431. Available at: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0054431>.

156. Kong Z, Wang F, Ji S, Deng X, Xia Z. Selenium supplementation for sepsis: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Am J Emerg Med* 2013;31:1170–1175. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0735675713002519>.

157. McClave SA, Taylor BE, Martindale RG, Warren MM, Johnson DR, Braunschweig C,

et al. Guidelines for the Provision and Assessment of Nutrition Support Therapy in the Adult Critically Ill Patient. *J Parenter Enter Nutr* 2016;40:159–211. Available at: <http://doi.wiley.com/10.1177/0148607115621863>.

158. Allingstrup M, Afshari A. Selenium supplementation for critically ill adults. *Cochrane Database Syst Rev* 2015;2018. Available at: <http://doi.wiley.com/10.1002/14651858.CD003703.pub3>.

159. Landucci F, Mancinelli P, Gaudio AR De, Virgili G. Selenium supplementation in critically ill patients: A systematic review and meta-analysis. *J Crit Care* 2014;29:150–156. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0883944113003109>.

160. Lovat R, Preiser J-C. Antioxidant therapy in intensive care. *Curr Opin Crit Care* 2003;9:266–270. Available at: <http://journals.lww.com/00075198-200308000-00003>.

161. Nathens AB, Neff MJ, Jurkovich GJ, Klotz P, Farver K, Ruzinski JT, et al. Randomized, Prospective Trial of Antioxidant Supplementation in Critically Ill Surgical Patients. *Ann Surg* 2002;236:814–822. Available at: <http://journals.lww.com/00000658-200212000-00014>.

162. Paterson RL, Galley HF, Webster NR. The effect of N-acetylcysteine on nuclear factor- κ B activation, interleukin-6, interleukin-8, and intercellular adhesion molecule-1 expression in patients with sepsis*. *Crit Care Med* 2003;31:2574–2578. Available at: <http://journals.lww.com/00003246-200311000-00002>.

163. Wheeler AP, Bernard GR. Treating Patients with Severe Sepsis. *N Engl J Med* 1999;340:207–214. Available at: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJM199901213400307>.

164. Pinsky MR. Antioxidant therapy for severe sepsis: Promise and perspective *. *Crit Care Med* 2003;31:2697–2698. Available at: <http://journals.lww.com/00003246-200311000-00021>.

165. Hurtado Bredda FJ, Nin Vaeza N, Rubbo Amonini H. Estrés oxidativo y nitrosativo en la sepsis. *Med Intensiva* 2005;29:159–165. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0210569105742236>.