



Tesis para optar al grado de Magíster en Ciencias Mención  
Radicales Libres en Biomedicina

**Revisión Sistemática: Estrés oxidativo y respuesta  
inflamatoria en la Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica**

**Candidato:** Matías Ramírez Mora.

**Profesor Guía:** Ph. D. Daniel Ciudad Antognini.

**Viña del Mar, septiembre del 2018**

## ÍNDICE

<b>Índice</b> .....	2
<b>Abreviaturas</b> .....	3-4
<b>Resumen</b> .....	5-7
<b>Introducción</b> .....	8-9
<b>Marco Teórico</b> .....	10-56
<b>Metodología</b> .....	57-60
<b>Resultados</b> .....	61-71
<b>Discusión</b> .....	72-75
<b>Conclusiones</b> .....	76-77
<b>Bibliografía</b> .....	78-83

## Abreviaturas

EPOC: Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica.

SDRA: Síndrome de Distrés Respiratorio del Adulto.

GOLD: Iniciativa Global para la Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica.

EROS: Especies Reactivas de Oxígeno.

ERNS: Especies Reactivas de Nitrógeno.

RP: Rehabilitación Pulmonar.

RL: Radicales Libres.

DM: Disfunción Muscular.

BC: Bronquitis Crónica.

VEF1: Volumen Espirado en el primer segundo.

CVF: Capacidad Vital Forzada.

CAE: Concentrado en el Aire Espirado.

BALF: Lavado Bronco Alveolar.

ELF: Lámina de Fluido Epitelial.

O<sub>2</sub>: Oxígeno Molecular.

<sup>1</sup>O<sub>2</sub>: Oxígeno Singlete.

O<sub>2</sub><sup>-·</sup>: Anión radical Superóxido.

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: Peróxido de hidrógeno.

OH<sup>·</sup>: Radical Hidroxilo.

HO<sup>·</sup><sub>2</sub>: Radical Hidroperoxilo.

SO<sub>2</sub>: Dióxido de Azufre.

NO: Óxido Nítrico.

NO<sub>2</sub><sup>·</sup>: Radical Dióxido de nitrógeno.

NOS: Óxido Nítrico Sintasa.

ONOO<sup>-</sup>: Peroxinitrito.

NRF-2: Factor Nuclear Eritroide 2.

SOD: Superóxido Dismutasa.

CAT: Catalasa.

GSH: Glutati3n.

IL: Interleuquina.  
IL-1 RA: Interleuquina 1 Primaria.  
TNF: Factor de Necrosis Tumoral.  
TGF- $\beta$ : Factor de crecimiento Transformante Beta.  
EGFR: Factor de Crecimiento Epidérmico.  
NF- $\kappa$ B: Factor de transcripción  $\kappa$ B.  
VEGF: Factor de Crecimiento Endotelial Vascular.  
MDA: Malondialdehído.  
TBARS: Ácido Tiobarbitúrico.  
ECC: Ensayo Clínico Controlado.  
CML: Células Musculares Lisas.  
HO-1: Hemo Oxigenasa 1.  
HIF-1 $\alpha$ : Factor Hipoxia Inducible 1 $\alpha$ .  
HAT: Histonas Acetil Transferasa.  
HADC: Histonas Desacetilasas.  
NAP-2: Péptido Activador de Neutrófilos Epiteliales 2.  
ICC: Insuficiencia Cardíaca Congestiva.  
CRQ: Chronic Respiratory Questionnaire,  
NE: Neutrófilos.  
ADN: Ácido Desoxirribonucleico.  
ARN: Ácido Ribonucleico.  
ATP: Adenosín Trifosfato.  
NADH: Nicotinamida Adenina Dinucleótido de Hidrógeno.  
NADPH: Nicotinamida Adenina Dinucleótido de Fósforo Reducida.  
GSA: Gases en Sangre Arterial.  
MMP 9 – 14 - 180: Metaloproteínasa de Matriz (9-14-180).  
P66SHC: Proteína del Adaptador de P66SHC.  
BIK: Gen BIK (BCL2).  
MUC5AC-AB: Glicoproteína MUC.

## Resumen

La Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica (EPOC) es una enfermedad que ocasiona muerte y discapacidad, de la cual se espera sea la tercera causa principal de muerte en el mundo para el año 2030. El humo del cigarro es el principal factor etiológico asociado con el desarrollo de la EPOC, para la cual no existe cura. El desarrollo de la EPOC comienza cuando los gases y humos nocivos penetran en los pulmones de un huésped susceptible. En respuesta a esto, la inflamación se desarrolla alrededor de las vías respiratorias y los vasos sanguíneos asociados. La inflamación es una característica central de la EPOC que causa activación y alteración en las células estructurales de las vías respiratorias y del parénquima pulmonar junto al reclutamiento de células inflamatorias. El estrés oxidativo inducido por el humo del cigarrillo (HC) inicia una serie de reacciones celulares y moleculares, que incluyen la activación de las cascadas de enzimas kinasas, transcripción de factores inflamatorios con la consiguiente liberación de sus mediadores, lesión celular y apoptosis. El HC es una fuente rica en especies reactivas de oxígeno (EROS). Se especula que la exposición repetida al HC sobrepasa las defensas antioxidantes de los pulmones dando como resultado una lesión. Por consiguiente, el estrés oxidativo es el factor iniciador en la vía por la cual la exposición al HC conduce a la enfermedad. **Metodología:** se realizó una revisión sistemática de la literatura respecto al rol de los agentes oxidantes/antioxidantes en la EPOC. Al respecto la búsqueda arrojó 1921 artículos relacionados con el objetivo de la revisión de los cuales, 13 cumplieron con todos los criterios de inclusión. **Resultados:** En todos los estudios revisados, se repiten patrones claros acerca de la predominancia de agentes proinflamatorios en la EPOC, entre los cuales se encuentran; IL-1,6,8, TNF- $\alpha$  y NF- $\kappa\beta$ . Además. se encontró un aumento de los niveles de biomarcadores de daño oxidativo en esta patología. Con relación a los agentes antioxidantes que arrojaron mejores resultados en el control de la inflamación crónica y estado oxidativo se encuentran; curcumina, resveratrol, propóleo, NAC, erdosteína, estemonina y ácido linoleico. **Conclusiones:** Aún no se conoce con exactitud los mecanismos fisiopatológicos involucrados en la patogénesis y progresión de la EPOC. No obstante, las teorías de mayor peso

teórico corresponden a; un aumento del estado inflamatorio, desbalance oxidativo, desbalance del sistema proteasas/antiproteasas y apoptosis. Los pacientes con EPOC presentan alteración del estado inflamatorio, con aumento en marcadores de citoquinas proinflamatorias, factores de transcripción-crecimiento y biomarcadores de estrés oxidativo. Se ha comprobado que algunos agentes antioxidantes exógenos inciden de forma positiva en el control de la inflamación crónica y estado prooxidativo de la EPOC. No obstante, se requiere llevar a cabo una mayor cantidad de estudios que presenten mayor evidencia, con el fin de determinar el efecto de los agentes antioxidantes en el curso de la inflamación crónica y estrés oxidante en la EPOC, para así proponerlos como tratamientos efectivos en los pacientes que la padecen. **Palabras claves:** EPOC, Inflamación crónica, Agentes oxidantes/antioxidantes, EROS/ERNS.

### **Abstract**

Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD) is a disease that causes death and disability, which is expected to be the third leading cause of death in the world by the year 2030. Cigarette smoke is the main etiological factor associated with the development of COPD, there is no cure for it. The development of COPD begins when harmful gases and fumes enter the lungs of a susceptible host. In response to this, inflammation develops around the airways and associated blood vessels. COPD central feature is Inflammation that causes activation and alteration in the structural cells of the respiratory tract and pulmonary parenchyma together with the recruitment of inflammatory cells. Oxidative stress induced by cigarette smoke (CS) initiates a series of cellular and molecular reactions, which include the activation of enzymes kinases cascades, transcription of inflammatory factors with the consequent release of mediators, cell damage and apoptosis. CS is a rich source of reactive oxygen species (ROS). It is speculated that repeated exposure to CS exceeds the antioxidant defenses of the lungs resulting in a injury. Therefore, oxidative stress is the initiating factor in the pathway through which CS exposure leads to disease. **Methodology:** A systematic review of the literature regarding the role of oxidizing / antioxidant agents in COPD was carried out. About the search found 1921 articles related to the purpose of the review of

which 13 met all inclusion criteria. **Results:** In all studies reviewed, clear patterns are repeated on the predominance proinflammatory agents in COPD, among which are; IL-1,6,8, TNF- $\alpha$  and NF- $\kappa\beta$ . Further. increased levels of biomarkers of ivo Oxidative damage in this disease was found. In relation to the antioxidant agents that gave better results in the control of chronic inflammation and oxidative state are found; curcumin, resveratrol, propolis, NAC, erdostein, stemonin and oleic acid. **Conclusions:** The pathophysiological mechanisms involved in the pathogenesis and progression of COPD are still unknown. However, the theories of higher theoretical weight correspond to; Increase of the inflammatory state, oxidative balance, protease unbalance / antiprotease system and apoptosis. Patients with COPD present an alteration of the inflammatory state, with an increase in markers of proinflammatory cytokines, transcription-growth factors and biomarkers of oxidative stress. It has been proven that some exogenous antioxidant agents have a positive effect on the control of chronic inflammation and the pro-oxidative state of COPD. However, s and required to perform a greater number of studies showing further evidence, in order to determine the effect of an antioxidants agents in the course of chronic inflammation and oxidative stress in COPD, thus providing role treatments effective in the patients who suffer it. **Keys**  
**Words:** COPD, Inflammation, Agents oxidant/antioxidant, ROS/RNS.

## Introducción

La Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica (EPOC) es una enfermedad que ocasiona muerte y discapacidad, de la cual se espera sea la tercera causa principal de muerte en el mundo para el año 2030<sup>1</sup>.

El humo del cigarro es el principal factor etiológico asociado con el desarrollo de la EPOC, para la cual no existe cura<sup>2</sup>.

En la actualidad se ha avanzado hacia la aplicación de terapias eficaces en el control de esta patología; sin embargo, estas sólo consisten en el tratamiento de la sintomatología, sus resultados son limitados y no han podido lograr la reducción en la progresión de esta enfermedad<sup>3</sup>.

La reacción inflamatoria producida por el humo del cigarro es crucial en el mecanismo fisiopatológico de la EPOC. La alta concentración de moléculas prooxidantes que este posee, sumado a las formadas endógenamente por células inflamatorias, superan la capacidad de los mecanismos fisiológicos de protección oxidante, creando así un ambiente favorable de estrés oxidativo<sup>2</sup>.

Estudios epidemiológicos han establecido un vínculo beneficioso entre el consumo de compuestos antioxidantes y la reducción del riesgo de esta enfermedad, lo que se atribuye tanto a sus propiedades antioxidantes y anti-inflamatorias<sup>4</sup>.

Una correlación significativamente inversa entre la ingesta de compuestos fenólicos y la incidencia de EPOC se ha informado en un estudio con más de 13.000 sujetos, en donde se concluyó que el aumento en la ingesta de compuestos fenólicos, tales como catequina, flavonol y flavona, puede mejorar algunos síntomas como la tos y dificultad respiratoria. La función pulmonar también puede mejorarse según la medición del volumen espiratorio forzado en el primer segundo (VEF1)<sup>5</sup>.

Otros estudios han demostrado un impacto directo entre la concentración de compuestos fenólicos (resveratrol) y la inflamación in vitro e in vivo, dado que este compuesto inhibe las citoquinas inflamatorias liberadas por macrófagos aislados de pacientes con EPOC<sup>6</sup>.

Meja et al. (2008) observaron que la curcumina puede controlar la inflamación y restaurar la eficacia de glucocorticoides en respuesta al estrés oxidativo<sup>7</sup>.

Por todo lo anterior, surge la problemática de investigación de determinar el rol específico de las especies reactivas de oxígeno y balance oxidativo en la EPOC y el impacto que los agentes antioxidantes producen en esta patología, dado que hasta el momento aún no se ha logrado establecer un tratamiento eficaz en el manejo de esta enfermedad.

Adicionalmente se incluye, unos de los problemas asociados de la EPOC, que corresponde a la Disfunción Muscular (DM) que afecta a la musculatura periférica, la cual es modulada por el estado proinflamatorio existente<sup>26</sup>.

Al respecto, se ha demostrado que el ejercicio promueve un control del estado prooxidativo, por lo que no pocos investigadores le han atribuido un posible rol antiinflamatorio<sup>26,42,44</sup>.

Por tanto, la DM también constituye una problemática incluida en la presente revisión.

## **Marco Teórico**

La EPOC es un problema clínico, caracterizada por la obstrucción irreversible o parcialmente reversible de las vías aéreas, la cual se encuentra en camino de convertirse en la tercera causa de muerte más común en todo el mundo para el año 2030. En general, esta condición es el resultado de una respuesta inflamatoria anormal después de la exposición del pulmón a partículas nocivas y/o gases<sup>2,8</sup>.

El principal factor etiológico en la patogénesis de la EPOC es el humo del cigarrillo (HC), ya que la exposición prolongada a éste produce una sobrecarga a nivel de las vías respiratorias<sup>8</sup>.

Desde principios del siglo XIX, se ha reconocido una asociación entre la exposición al HC y los síntomas de la enfermedad pulmonar crónica; no obstante, si bien el aumento mundial del tabaquismo ha incrementado de manera dramática la prevalencia de esta condición, se ha estimado que hasta un cuarto de las personas con EPOC no son ni han sido fumadores<sup>8</sup>.

Las personas con EPOC poseen síntomas inespecíficos que incluyen tos crónica, hipersecreción de glándulas mucosas y disnea (sensación de ahogo); en este sentido, la identificación de los pacientes con EPOC a menudo se complica por el hecho de que los síntomas se manifiestan de forma tardía en el curso de la enfermedad<sup>8</sup>.

Con la finalidad de aumentar la conciencia de esta condición, la iniciativa global para la enfermedad pulmonar obstructiva (GOLD) se estableció en 1998. Este programa, que corresponde a una cooperación entre la organización mundial de la salud (OMS) y los institutos nacionales de salud de los Estados Unidos, describe estrategias para el diagnóstico, prevención y tratamiento de la EPOC<sup>8</sup>.

Cabe destacar que la EPOC es un término general que describe un grupo de enfermedades. Condiciones asociadas con el desarrollo de este deterioro fisiológico incluyen bronquitis crónica y enfisema<sup>8</sup>.

La bronquitis crónica (BC) se define como la presencia de tos con producción de esputo durante al menos 3 meses consecutivos en un período de 2 años correlativos. Los individuos a menudo minimizan este síntoma y se refieren a él como una simple tos de los fumadores<sup>8</sup>.

Es importante destacar que la tos refleja un problema más profundo que la inflamación, evidenciando, además una lesión de las células epiteliales y estrechamiento de los lúmenes de las vías respiratorias<sup>8</sup>.

En contraste con la BC, el enfisema no es un diagnóstico clínico, sino más bien es reconocido por la identificación de los sacos alveolares dilatados en el pulmón, mediante la tomografía computarizada. Estos sacos alveolares, son las unidades del pulmón involucradas en el intercambio gaseoso. De esta forma, el enfisema ocurre cuando estos pequeños sacos aéreos se destruyen, y se forman grandes espacios aéreos dilatados que se hacen evidentes en el pulmón<sup>8</sup>.

Si bien la BC y el enfisema pueden ser fácilmente separados, la mayoría de los pacientes con EPOC padecen de ambas condiciones<sup>8</sup>.

Por otra parte, las estimaciones actuales sugieren que aproximadamente un tercio de todos los fumadores de cigarrillos continuarán desarrollando EPOC, y tomando en cuenta que el diagnóstico de esta enfermedad se basa en la identificación de pacientes con obstrucción irreversible de las vías respiratorias, es que recomendaciones actuales sugieren que todos los fumadores con tos crónica, exceso en la producción de esputo y/o disnea se sometan a una evaluación fisiológica con pruebas de función pulmonar<sup>2,8</sup>.

En este sentido, la prueba estándar para identificar la obstrucción del flujo aéreo es la espirometría. Ésta evalúa las propiedades mecánicas del sistema respiratorio mediante la medición de los volúmenes inspiratorios y espiratorios durante un esfuerzo ventilatorio<sup>8</sup>.

## **Patogenia de la EPOC**

Durante muchas décadas, existieron dos teorías predominantes, que a menudo se referían a ellas como las hipótesis holandesas y británicas<sup>8</sup>.

La hipótesis holandesa propone que el desarrollo de la obstrucción crónica del flujo aéreo se relaciona principalmente con la susceptibilidad genética de un individuo. En contraste, la hipótesis británica, especula que los factores exógenos son la causa predominante, y la genética desempeña un papel secundario<sup>8</sup>.

Aunque las dos partes continúan debatiendo, los descubrimientos científicos proporcionan evidencia de que tanto el medio ambiente y la genética juegan papeles complementarios<sup>8</sup>.

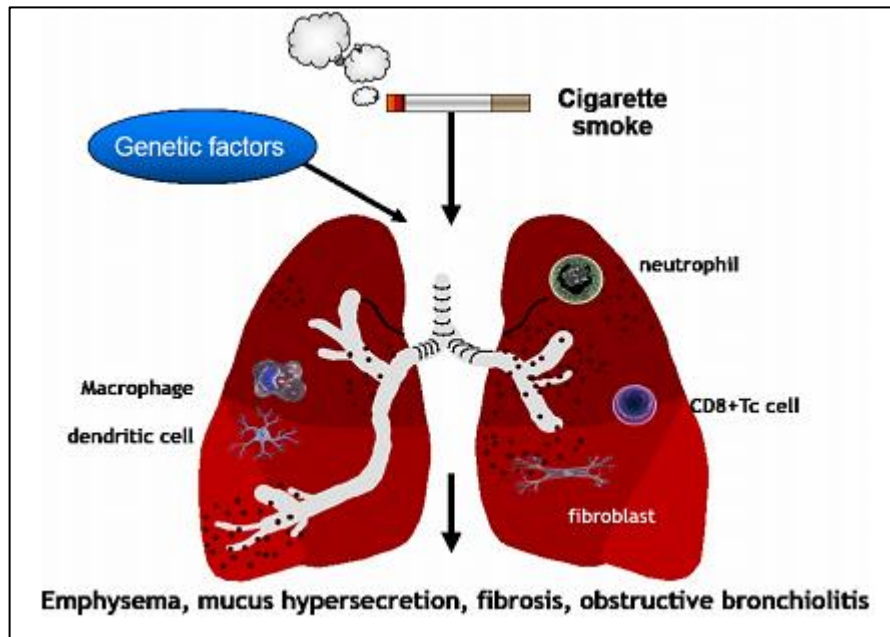
El desarrollo de la EPOC comienza cuando los gases y humos nocivos penetran en los pulmones de un huésped susceptible. En respuesta a esto, la inflamación se desarrolla alrededor de las vías respiratorias y los vasos sanguíneos asociados. Ésta es una característica central de la EPOC que causa activación y alteración en las células estructurales de las vías respiratorias y del parénquima pulmonar junto al reclutamiento de células inflamatorias<sup>8,15,18</sup>.

La obstrucción crónica del flujo aéreo en la EPOC inducida por el tabaquismo es el resultado de una combinación de dos procesos; la inflamación y remodelación de las vías respiratorias de pequeño calibre con la consiguiente pérdida de la elasticidad pulmonar<sup>51</sup>.

Las células inflamatorias como los macrófagos, neutrófilos (NE), linfocitos T y B, junto a las células dendríticas aumentan en el pulmón (figura 1). Éstas activadas liberan una variedad de mediadores, que lesionan el tejido pulmonar y activan una compleja cascada inflamatoria<sup>8,51</sup>.

Durante la inflamación, las enzimas conocidas como proteasas son liberadas desde los NE causando la destrucción del tejido de elastina. En el pulmón sano, las enzimas degradativas se mantienen reguladas por proteínas conocidas como antiproteasas. La incapacidad de inactivar proteasas, como ocurre en los

individuos con deficiencia de las antiproteasas  $\alpha$ 1-antitripsina, induce como resultado la destrucción del pulmón y el desarrollo de enfisema temprano<sup>8,51</sup>.



**Figura 1.** Agentes inmunológicos involucrados en la inflamación de la EPOC (Propac P et al. (2017))<sup>51</sup>.

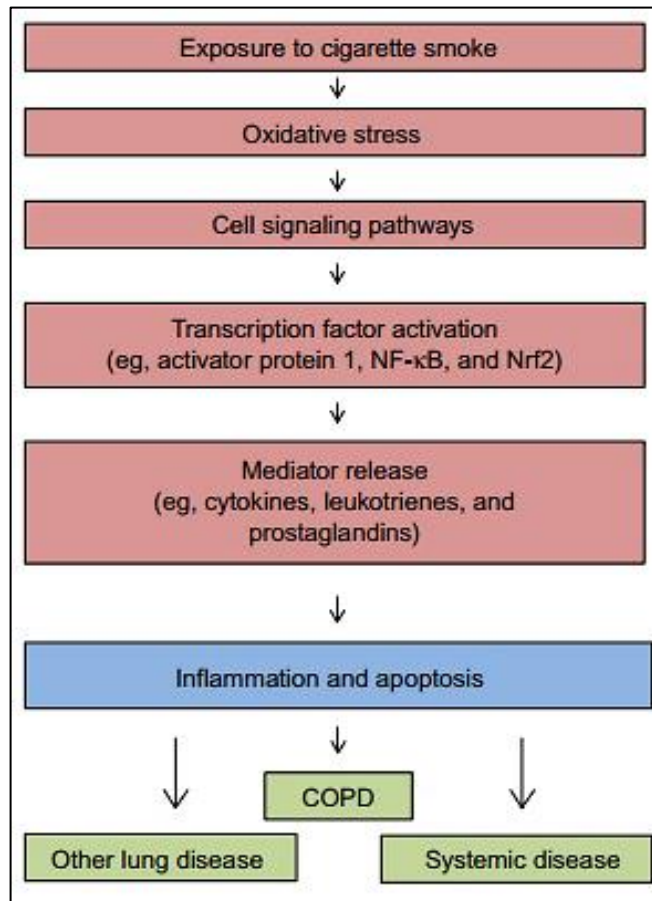
Este descubrimiento ha llevado a algunos expertos a argumentar que el desequilibrio en proteasas y antiproteasas es la explicación principal para el desarrollo de enfisema. Sin embargo, la reciente evidencia indica que la lesión pulmonar inducida por estrés oxidante también juega un papel importante y tendría un rol directo sobre el sistema proteasas/antiproteasas<sup>51</sup>.

Consistente con esto, el HC es una fuente rica en especies reactivas de oxígeno (EROS). Se especula que la exposición repetida al HC sobrepasa las defensas antioxidantes de los pulmones dando como resultado una lesión<sup>51</sup>.

En conjunto, estos hallazgos sugieren que el enfisema es el desafortunado punto final de varios procesos patológicos<sup>8,51</sup>.

## Estrés oxidativo y fisiopatología de la EPOC

El estrés oxidativo inducido por el HC inicia una serie de reacciones celulares y moleculares, que incluyen la activación de las cascadas de señalización de enzimas kinasas, transcripción de factores inflamatorios con la consiguiente liberación de sus mediadores, daño celular y apoptosis (figura 2)<sup>2</sup>.



**Figura 2.** Secuencia de desarrollo de la EPOC, Fischer M. et al. (2015)<sup>2</sup>.

Por consiguiente, el estrés oxidativo es el factor iniciador en la vía por la cual la exposición al HC conduce a la enfermedad<sup>2</sup>.

Un aumento en la expresión de los factores proinflamatorios, incluyendo citoquinas y productos de peroxidación del ácido araquidónico (leucotrienos, prostanoïdes e isoprostanos), se producen en los fumadores. El producto final de esta cascada de reacciones es la inflamación (pulmonar y sistémica). Si la

respuesta es prolongada, pueden generarse lesiones de tipo fibrótica y/o neoplásica<sup>2</sup>.

Como ya se mencionó, la exposición al HC es el punto de partida de mayor incidencia de las vías fisiopatológicas analizadas. Este factor de riesgo, cuyo rol ha sido demostrado y descrito en el desarrollo de la EPOC, permitió colocarlo en un contexto teórico fuerte<sup>22</sup>.

La EPOC no puede analizarse por separado de las sofisticadas interacciones dinámicas en la inmunopatología. Para describirlo con mayor claridad, se ha parcelado por la participación de los tejidos de las vías respiratorias y células inmunes, tal y cual como se describe a continuación<sup>22</sup>:

### **Tejidos de las vías aéreas**

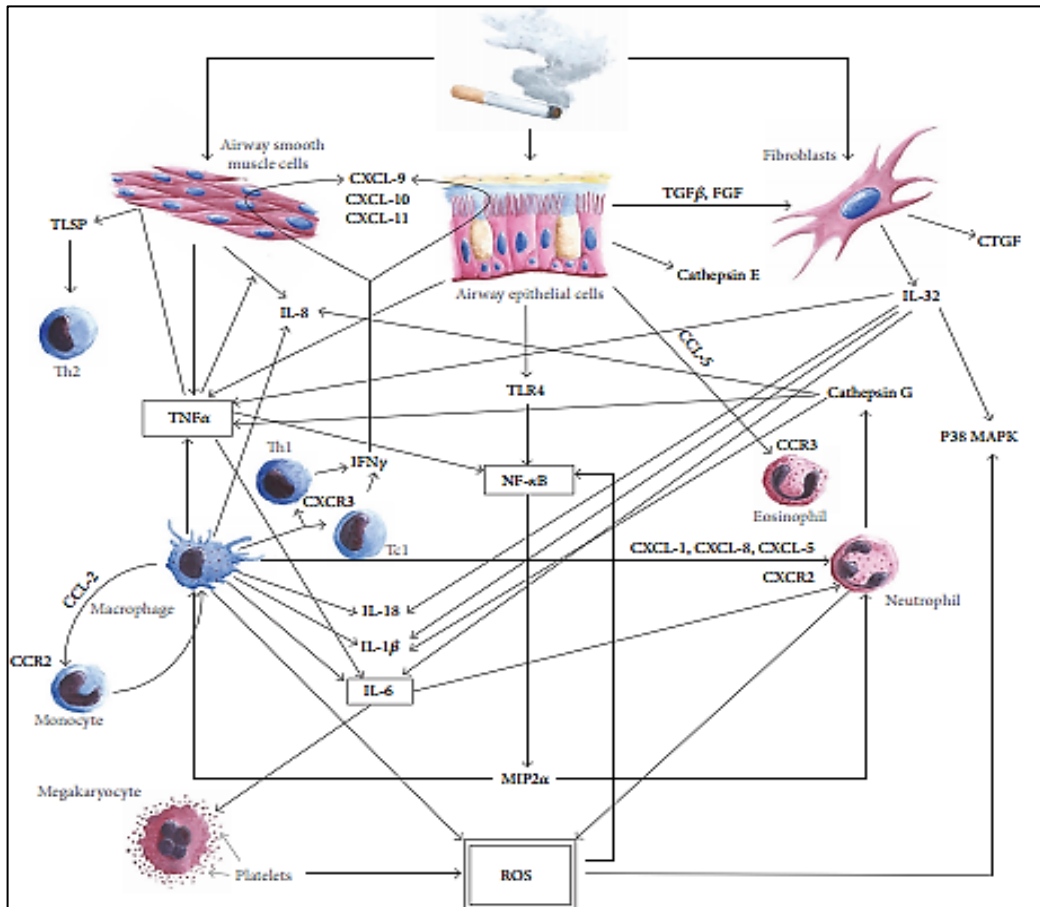
Las EROS reaccionan con las células epiteliales de las vías aéreas, causando lesiones directas<sup>22</sup>.

La oxidación de los ácidos grasos insaturados induce cambios en sus actividades biológicas. Los altos niveles de fosfolípidos oxidados pueden directa o indirectamente acoplar la señalización del receptor TLR (toll-like), conduciendo a la lesión pulmonar. La estimulación de TLR4, puede facilitar la vía que conduce a la activación del factor nuclear  $\kappa\beta$  (NF- $\kappa\beta$ )<sup>22</sup>. Éste juega un rol central en la inflamación y la respuesta celular mediante el control de la red de expresión génica, participando activamente en muchas de las vías inflamatorias de la EPOC<sup>22</sup>.

Los miembros de esta familia pueden activar la expresión de muchos genes proinflamatorios que desempeñan un papel preponderante en la inflamación pulmonar. Así, la activación de NF- $\kappa\beta$  es sensible al estado celular redox y puede ser regulada por los cambios en la homeostasis oxidante/antioxidante (Figura 2 y 3)<sup>22,51</sup>.

Las células epiteliales participan de forma activa en los pacientes fumadores, ya que actúan como fuente de producción de NF- $\kappa\beta$ . Éste es blanco de procesos de acetilación y desacetilación. Por tanto, puede ser objetivo de enzimas que modulan estos procesos mediante el balance histona acetiltransferasas (HATs) e histona

desacetilasas (HDACs). De esta manera, estas enzimas regulan la transcripción de genes proinflamatorios<sup>22</sup>.



**Figura 3.** Cascada de activación de NF-κβ por el HC y producción de citoquinas y quimioquinas proinflamatorias (Bialas A. et al. (2016))<sup>22</sup>.

La actividad de las HATs en los pulmones de pacientes con la EPOC parece no estar alterada. Sin embargo, la actividad de HDACs se encuentra disminuida en las muestras realizadas en el tejido pulmonar periférico, situación que acarrea consecuencias clínicas perjudiciales dada las funciones que en la fisiología pulmonar las HDACs (HDAC 3, 5 y 8) desarrollan especialmente en su participación en el ciclo y diferenciación celular y la apoptosis<sup>22,24,25</sup>.

La disminución de HDAC2 puede conducir a la pérdida de la actividad del factor NRF-2, el cual regula la expresión génica de muchos antioxidantes y genes citoprotectores<sup>22</sup>.

El estrés oxidativo participa tanto en la activación de las HATs y la reducción en los mecanismos de señalización de HDAC2, vía modificación postraduccional quinasa-dependiente<sup>22</sup>.

### **Células del músculo liso (CML)**

Las CML de las vías aéreas también juegan un papel importante en esta red de citoquinas y el equilibrio oxidativo/antioxidante<sup>22</sup>.

El HC puede activar directamente las CML para liberar IL-8 y potenciar su producción mediante el factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ). Además de modular otras citoquinas y quimioquinas como; IL-6, CXCL-1, CCL-2, la proteína activadora de neutrófilos-2 (NAP-2), el péptido activador de neutrófilos epiteliales 78 (también conocido como CXCL-5), y CCL-17<sup>22</sup>.

### **Monocitos y Macrófagos**

Los monocitos y macrófagos forman parte de la primera línea de defensa y contribuyen a la homeostasis en la enfermedad, ya que expresan receptores de superficie e intracelulares y participan en vías de transducción de señales con diferentes matrices de expresión génica<sup>53,54</sup>.

Los macrófagos alveolares se desarrollan a partir de monocitos fetales que se diferencian en células de larga vida en la primera semana de nacimiento a través de factores estimulantes de colonias de granulocitos-macrófagos (GM-CSF). Tienen larga duración, capacidad endocítica y fagocítica<sup>53,54</sup>.

La proliferación y reclutamiento de los macrófagos durante la enfermedad modula la lesión hacia la curación. El número de estos está aumentado (5 a 10 veces) en pacientes con EPOC y al activarse liberan; TNF- $\alpha$ , CXCL1, CXCL8, CCL2, leucotrieno B4 (LTB4), EROS y enzimas elastolíticas (proteasas), metaloproteinasas de matriz (MMP) 2, 9 y 12, catepsinas K, L y S y la elastasa de

neutrófilos. Este incremento en la EPOC se debe al reclutamiento de monocitos y la liberación de las quimioquinas CCL2 y CXCL1<sup>52,53,54</sup>.

La reducción de la actividad HDAC en los macrófagos se correlaciona con el aumento de la secreción de citocinas, como el TNF- $\alpha$  y CXCL8 y una baja respuesta a los corticosteroides<sup>55</sup>.

Los macrófagos son la principal fuente de IL-32 que induce la producción de citocinas mediante la activación de NF- $\kappa$ B, promoviendo la inflamación autoinmune en EPOC<sup>56</sup>.

### **Neutrófilos**

Los NE migran a las áreas infectadas a través del endotelio, la membrana basal y la capa epitelial. Son importantes para destruir bacterias extracelulares y hongos por fagocitosis y en la liberación de EROS/ERNS<sup>52</sup>.

Los NE que están aumentados en pacientes con EPOC, migran al tracto respiratorio mediante factores quimiotácticos como; LTB4, CXCL1, CXCL5 y CXCL8 y TNF- $\alpha$ . Además, el propio NE puede ser una fuente importante de CXCL8<sup>52</sup>.

Los NE reclutados en las vías respiratorias de los pacientes con EPOC se activan debido a las concentraciones de gránulos proteolíticos, como la mieloperoxidasa, proteasas, elastasa de neutrófilos, catepsina G, proteinasa-3, MMP-8 y MMP-9, que contribuyen a la destrucción alveolar<sup>52</sup>.

### **Linfocitos T, B, NK (*Natural Killer*)**

Los linfocitos T (LT) CD4+ y CD8+ y linfocitos B (LB), se encuentran en la vía aérea pequeña, dentro de los alvéolos y en los folículos linfoides, en mayor concentración en los sujetos con una limitación severa del flujo aéreo (mayor progresión de la EPOC)<sup>52,56</sup>.

Los antígenos, bacterianos o virales, productos de descomposición de la matriz extracelular y posiblemente autoantígenos del tejido pulmonar pueden provocar respuestas inmunes adaptativas en los pulmones de pacientes con EPOC,

con la participación de LT CD8+, células Th1 y Th17, CD4+ y LB, produciendo anticuerpos<sup>52</sup>.

El número de LT CD8+ pulmonares aumenta con la limitación del flujo aéreo y el enfisema. Cuando estos se activan liberan enzimas proteolíticas como perforinas y granzimas, que causan la muerte de células estructurales por apoptosis o necrosis<sup>52,53,54</sup>.

En pacientes con EPOC se han identificado LT CD8+, sus citoquinas y factores quimiotácticos correspondientes, así como interferón  $\gamma$  (INF $\gamma$ ), TNF- $\alpha$ , granzima B, perforinas, factor de crecimiento endotelial vascular y caspasa-3, que participan en la inducción de la apoptosis de las células estructurales del pulmón<sup>55-56</sup>.

La apoptosis es un mecanismo potencial de destrucción alveolar, contribuye a la ruptura de la matriz extracelular del parénquima pulmonar<sup>55-56</sup>.

La apoptosis es un proceso estrictamente regulado de muerte celular programada. Ésta permite la eliminación de células no deseadas, dañadas o infectadas. En la actualidad, se han descrito tres vías diferentes que están involucradas en la regulación de la apoptosis (Figura 4)<sup>57</sup>.

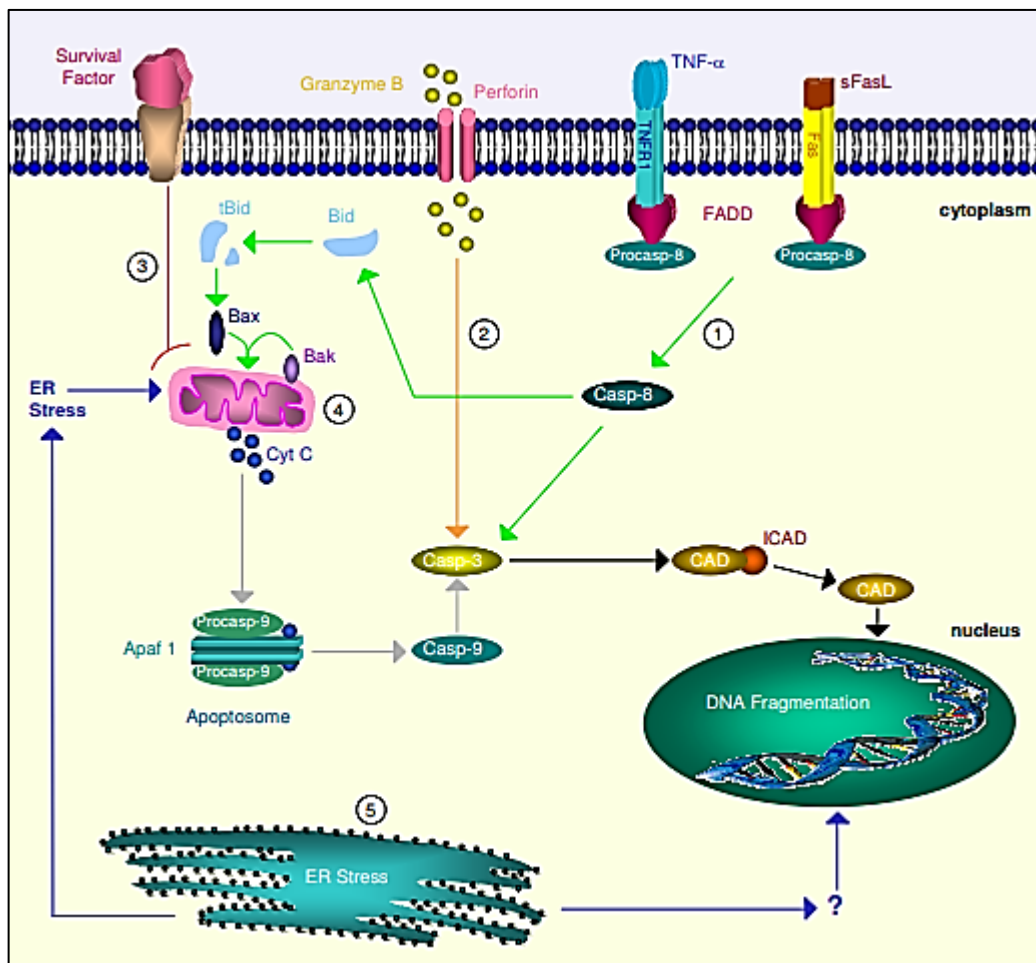
Diferentes caspasas (estas son proteasas con una función importante en la regulación de la apoptosis) están involucradas en estas vías<sup>57</sup>.

La primera, se activa en respuesta a señales extracelulares y está mediada por la unión de miembros de la familia del TNF (por ejemplo, ligando Fas, TNF- $\alpha$ ) a receptores de muerte en la superficie celular (por ejemplo, Fas, TNFR). Esto da como resultado la multimerización del receptor de muerte y la formación del complejo de señalización inductor de la muerte (DISC), que contiene múltiples moléculas adaptadoras tales como: el dominio de muerte asociado a Fas (FADD)<sup>57</sup>.

Esta FADD interactúa con la caspasa-8, lo que lleva a la activación autolítica de procaspasa-8 a caspasa-8. La caspasa-8 luego activa la caspasa-3, que finalmente ejecuta la apoptosis al liberar la ADNsa activada por caspasa (CAD) de

su inhibidor (ICAD) con la fragmentación del ADN como consecuencia. Esta vía se denomina vía extrínseca mediada por el receptor (Figura 4)<sup>57</sup>.

Es importante destacar que la caspasa-8 también puede romper la oferta de apoptosis, que luego, a través de la interacción con Bax y Bak, se transloca a la mitocondria y provoca la liberación de citocromo C<sup>57</sup>.



**Figura 4.** Vías de activación de apoptosis celular (Gasiuniene E. et al. (2016))<sup>57</sup>.

Una segunda vía, la intrínseca mitocondrial, responde a señales de estrés físico y químico mediante la liberación de citocromo C de las mitocondrias. Como consecuencia, el citocromo C, el factor 1 activador de la proteasa apoptótica (Apaf-1) y la caspasa 9 forman el apoptosoma, lo que resulta en la activación de caspasa-9 que luego activa la caspasa-3 e inicia la ejecución de la apoptosis<sup>13,14,15,16</sup>.

Finalmente, en la vía del retículo endoplasmático, la caspasa 12 se activa en respuesta a señales de estrés como la hipoxia<sup>57</sup>.

Además de estas vías dependientes de caspasas, se ha demostrado que las proteasas que no son caspasas pueden procesar y activar caspasas directamente (por ejemplo, la activación de la caspasa-3 por la granzima B)<sup>17,18,19</sup>.

La privación de señales de supervivencia, como los factores de crecimiento, también pueden inducir la apoptosis por la liberación mitocondrial del citocromo C<sup>57</sup>.

La apoptosis es crítica para el mantenimiento de la homeostasis tisular y está en equilibrio con la proliferación y la diferenciación celular<sup>57</sup>.

Cada vez hay más pruebas de que la alteración del equilibrio entre la apoptosis y la proliferación en el tejido pulmonar contribuye a la patogénesis de la EPOC<sup>57</sup>.

Un número limitado de estudios descriptivos en sujetos sugiere el posible papel de la apoptosis en la EPOC, mientras que un número creciente de estudios experimentales en modelos animales de EPOC proporciona más información sobre la asociación entre el tabaquismo, la apoptosis y el desarrollo de enfisema<sup>57</sup>.

El aumento de la actividad proteolítica en los pulmones de los pacientes con EPOC podría interferir con la apoptosis de varias maneras. La membrana basal contiene señales de supervivencia celular y la pérdida de estas señales de supervivencia (como consecuencia de la degradación de la membrana basal por metaloproteinasas de la matriz) puede inducir la apoptosis. Este proceso de apoptosis inducida por la pérdida de contactos apropiados de matriz celular está involucrado en la homeostasis tisular al mantener el número correcto de células de tejidos epiteliales de alto recambio<sup>59,60</sup>.

Aoshiba et. al. sugirieron que las interacciones célula-matriz extracelular modulan la apoptosis en el epitelio bronquial<sup>57</sup>.

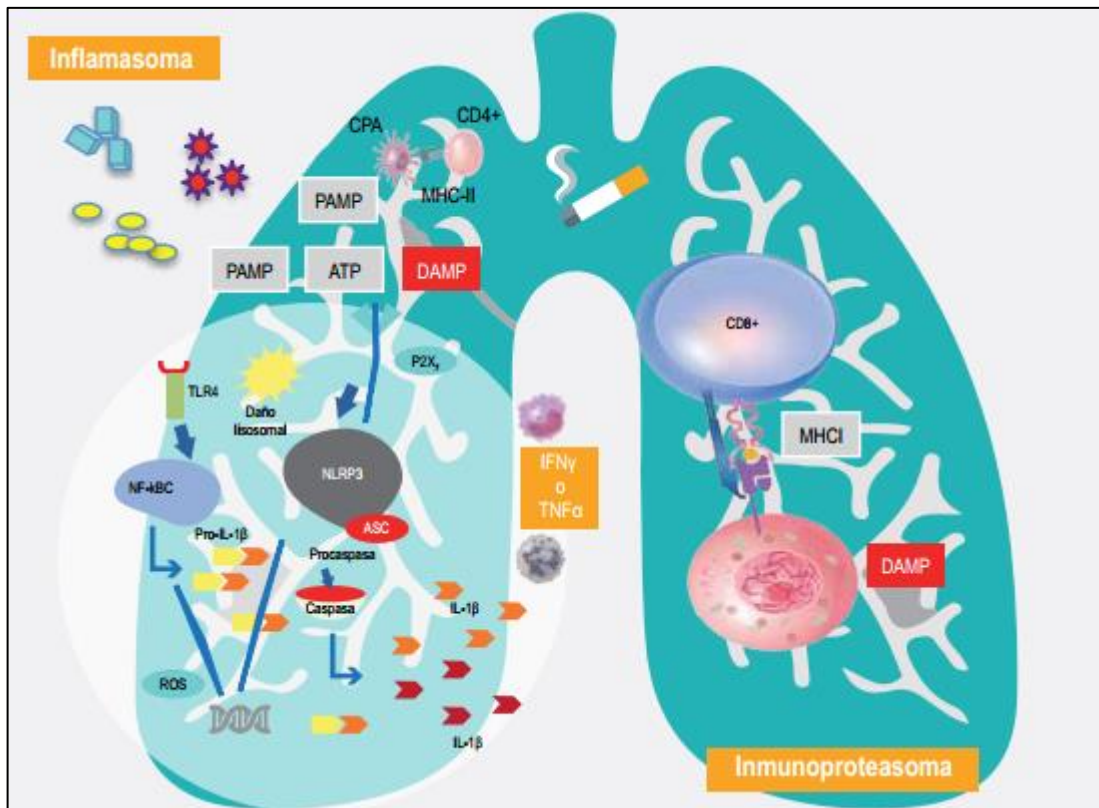
La apoptosis también puede verse afectada por la proteólisis directa de las señales que inducen la muerte. Se ha demostrado que MMP-7 arroja y activa el ligando de Fas que es producido por las células epiteliales, lo que modula la apoptosis<sup>57</sup>.

En un modelo de ratas con enfisema inducido por bloqueo de VEGFR, Tudor et. al. demostraron que la apoptosis predominaba en el pulmón en áreas de estrés oxidativo y que el bloqueo experimental de la apoptosis reducía marcadamente la expresión de marcadores de estrés oxidativo<sup>46</sup>.

La administración de un compuesto con actividad antioxidante evitó el desarrollo de la apoptosis de las células alveolares y la ampliación del espacio aéreo, lo que sugiere una interacción de retroalimentación positiva entre el estrés oxidativo y la apoptosis<sup>57</sup>.

## Inflamasoma e inmunoproteasoma en la EPOC

El inflamasoma es un complejo de inmunidad innata que regula la inflamación y está formado principalmente por NLRP3, caspasa 1, IL-1 $\beta$ , IL-8, IL-33, IL-37 NALP7, ST 2<sup>52</sup>.



**Figura 5.** Activación del inflamasoma y producción de citoquinas proinflamatorias (Gaetano Caramoni et al. (2016))<sup>52</sup>.

Varios estudios han demostrado que las células epiteliales y mesoteliales de las vías respiratorias, tal como se describió anteriormente, junto con las células inmunitarias innatas y adaptativas, son capaces de desencadenar episodios inflamatorios en respuesta a noxas endógenas y exógenas, después de desencadenantes de reconocimiento de patrones (PRR)<sup>58</sup>. Los PRR se expresan principalmente en células inmunes e inflamatorias tales como macrófagos, monocitos, NE y células dendríticas (CD) y reconocen patrones moleculares

asociados a patógenos (PAMP) y patrones moleculares asociados a daños (DAMP)<sup>52</sup>.

Los diferentes tipos de PRR incluyen receptores Toll-like (TLR), expresados en la membrana plasmática o en organelos endosomales/lisosomales, y receptores similares a dominios de oligomerización que se unen a nucleótidos (NLR: NOD1 y NOD2) que están presentes dentro del citoplasma (Figura 5). La estimulación de estos receptores conduce a vías de señalización que promueven la liberación de mediadores inflamatorios debido a la activación de NF- $\kappa$ B. Éste y sus activadores kinasa (IKK)  $\alpha/\beta$  desempeñan un papel importante en la conducción de la respuesta inflamatoria al inducir la expresión de genes proinflamatorios<sup>52,58</sup>.

La activación de NF- $\kappa$ B en respuesta a estímulos proinflamatorios está regulado por IKK, que fosforila I $\kappa$ B y promueve su degradación del proteasoma y la liberación de NF- $\kappa$ B para la activación de la translocación y transcripción nuclear de genes. Sin embargo, varios informes han demostrado que NF- $\kappa$ B e IKK  $\beta$  también influyen en las respuestas antiinflamatorias, lo que apunta a la resolución de la inflamación aguda<sup>6,52,58</sup>.

La respuesta inflamatoria en la EPOC implica inmunidad tanto innata como adaptativa. No obstante, las células estructurales, las células endoteliales, las vías respiratorias y las células epiteliales alveolares y fibroblastos<sup>8</sup>, expuestas al HC y/o contaminantes del aire pueden desencadenar una cascada inflamatoria que resulta en la activación de macrófagos y células epiteliales de las vías respiratorias que a su vez liberan citoquinas y quimioquinas que promueven el reclutamiento de otras células inflamatorias (es decir, neutrófilos, monocitos, linfocitos) hacia los pulmones<sup>52,58</sup>.

En este escenario, las células epiteliales se activan y participan en la liberación de mediadores inflamatorios, como el factor de necrosis tumoral (TNF-  $\alpha$ ), IL-1  $\beta$ , IL-6, factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF) e IL -8<sup>52,58</sup>.

Según lo informado por Camarori et al., la mayoría de las proteínas inflamatorias que están sobre expresadas en los macrófagos de la EPOC, se encuentran regulados por NF- $\kappa$ B, el cual está activo incluso durante la fase de exacerbación<sup>52,58</sup>.

Los macrófagos en la EPOC derivan de monocitos circulantes, que migran a los pulmones en respuesta a quimio atrayentes, como CCL2. (también conocido como MCP1) que actúa sobre CCR2 y CXCL1 que activa CXCR2. Cada vez hay más pruebas de que los macrófagos pulmonares orquestan la inflamación asociada a la EPOC mediante la liberación de quimioquinas que atraen NE, monocitos y células T y la liberación de proteasas, como la metaloproteínasa de matriz MMP-9<sup>58</sup>.

Una de las características de la EPOC es que corresponde a una respuesta inmune alterada seguida de inflamación pulmonar crónica. La evidencia científica emergente sugiere que la activación persistente del inflamasoma del receptor 3 similar a NOD (NLRP3) puede estar involucrada en el inicio de la patogénesis de la esta enfermedad<sup>52,58</sup>.

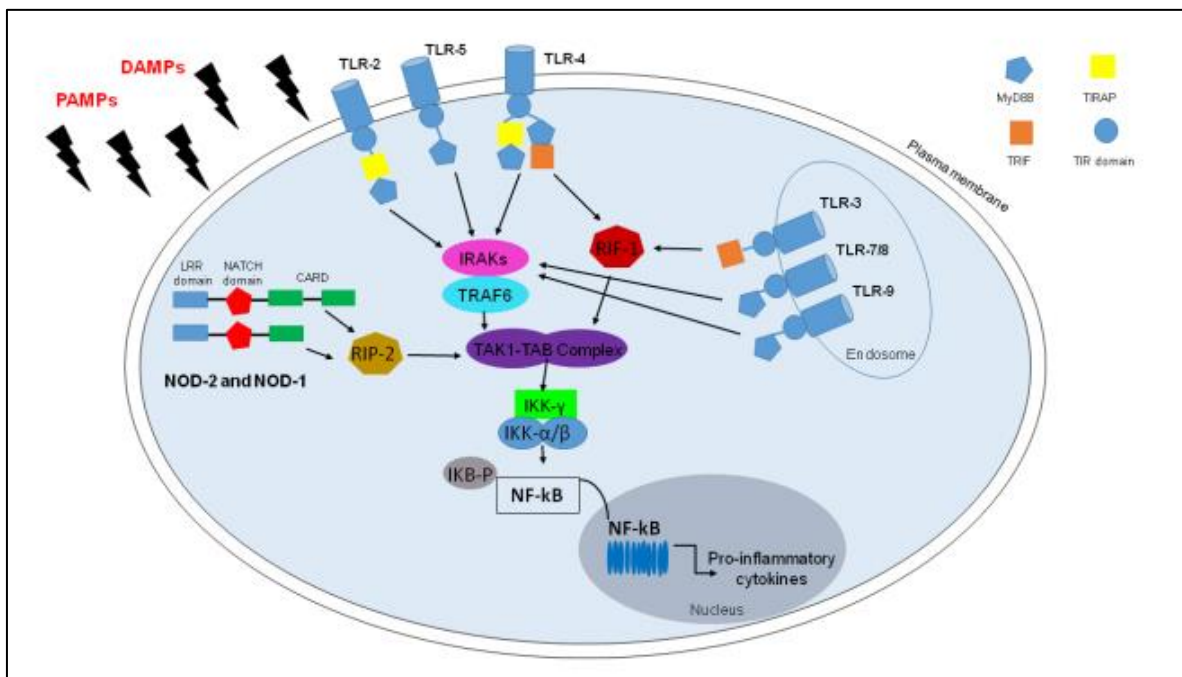
El inflamasoma es un complejo multimérico implicado en la liberación dependiente de caspasa-1 de citoquinas proinflamatorias similares a IL-1<sup>58</sup>.

NLRP3 es un complejo que contiene un dominio (C-terminal) de repetición rico en leucina (LRR), un dominio central NACHT (o NBD: dominio de unión a nucleótidos) y un dominio pirin N-terminal (PYR). El inflamasoma NLRP3 contiene la proteína adaptadora ASC (apoptosis similar a una proteína), que tiene un dominio de reclutamiento de caspasas (CARD). ASC actúa como una cremallera, uniendo a NLRP3 con procaspasa 1, que a su vez se somete a una escisión proteolítica que libera una forma activa de la enzima, capaz de activar pro-IL-1  $\beta$  y pro-IL-18 en sus formas activas, promoviendo la inflamación<sup>58</sup>.

Se postula que se requieren dos señales para la activación canónica del inflamasoma NLRP3 en ratones, mientras que un documento muy reciente, descubrió que la única adición de lipopolisacárido (LPS) a monocitos humanos es capaz de inducir la activación del inflamasoma con la liberación resultante de IL-1  $\beta$

e IL-18 sin muerte celular. También se ha descrito que existen diferentes niveles para la activación del inflamasoma entre humanos y ratones. La primera señal para la activación inflamasoma implica el reconocimiento de PAMP o DAMPS por TLR4 o TLR2, receptor de TNF (TNFR) y del receptor IL-1 (IL-1R), que gatilla la expresión génica dependiente de  $\text{NF-}\kappa\text{B}$ <sup>28,30,31</sup>.

La segunda señal conduce al ensamblaje de los componentes en la estructura inflamasoma y proporciona el reconocimiento intracelular de DAMP o PAMP por NLRP que a su vez se unen a ASC lo que lleva al reclutamiento y activación de caspasa-1 y producción de IL-1  $\alpha$ , IL-1  $\beta$ , IL-33 e IL18 que desempeñan un papel significativo en los procesos inflamatorios. De hecho, facilitan muchas respuestas sistémicas y localizadas, que a menudo actúan como alarmas o señales de peligro durante la inflamación y respuestas inmunes a los patógenos<sup>58</sup>.



**Figura 6.** Activación del inflamasoma por DAMPs Y PAMPs y activación de  $\text{NF-}\kappa\text{B}$  (Ingel K. et. Al. (2006))<sup>58</sup>.

Varios tipos de daños celulares pueden desencadenar la activación del inflamasoma NLRP3. Cada vez más evidencia indica que la inflamación crónica y

las respuestas inmunes en el inicio y la progresión de la EPOC se correlacionan con la exposición crónica al HC<sup>9</sup>.

En particular, aunque sigue siendo polémico sobre cómo las EROS pueden activar directa o indirectamente a NLRP3, una teoría sugiere que la NADPH oxidasa, la principal fuente de EROS bactericida en fagocitos, puede ser responsable de la activación del inflamasoma inducida por partículas<sup>52,58</sup>.

La desregulación de la función mitocondrial da como resultado un aumento en la producción mitocondrial de EROS y conduce a la activación del inflamasoma NLRP3<sup>52,58</sup>.

Se sabe que las EROS pueden ser tóxicas, pero también sirven como moléculas de señalización que modifican químicamente los objetivos celulares implicados en la activación del inflamasoma<sup>58</sup>.

Recientemente se demostró que los activadores del inflamasoma inducían la asociación dependiente de EROS de la proteína que interacciona con la tioredoxina (TRX) (TXNIP), una proteína que durante las condiciones de estrés oxidativo se une a NLRP3 y conduce a su activación<sup>52,58</sup>.

En este contexto, la exposición al HC aumenta los niveles de ROS que activan el inflamasoma NLRP3<sup>52,58</sup>.

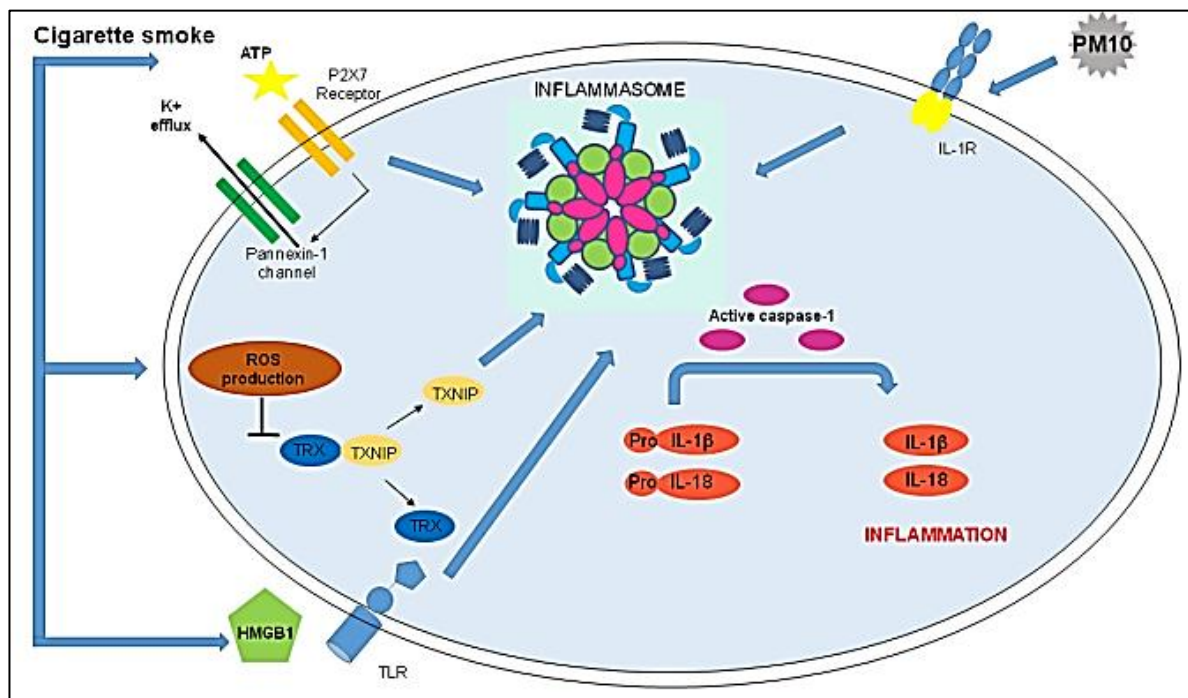
Por otra parte, los altos niveles de ATP extracelular (eATP) actúan como señal de peligro endógena que desencadena la activación del inflamasoma NLRP3 a través de la unión a P2X7 purino-receptor. La unión de eATP a P2X7 altera los niveles citosólicos de iones, específicamente el K<sup>+</sup> y Ca<sup>2+</sup>. La disminución intracelular de K<sup>+</sup> y el aumento de los niveles de Ca<sup>2+</sup> desencadenan la activación de NLRP3<sup>58</sup>.

Según lo informado por Muller et al., los pulmones de ratones expuestos al HC muestran niveles aumentados de eATP y EROS, debido a la activación de P2X7, lo que resulta en el ensamblaje y la activación de NLRP3 en células de tejidos bronquiales (Figura 6)<sup>58</sup>.

Otro efecto dependiente de inflammasoma es la piroptosis dependiente de caspasa-1, un tipo de muerte celular caracterizada tanto por apoptosis como por necrosis (necroptosis), que da como resultado la liberación de mediadores inflamatorios que incluyen IL-1  $\alpha$ , IL-1  $\beta$ , IL-18 y HMGB1 (proteína 1 de grupo de alta movilidad)<sup>58</sup>.

HMGB1, que inhibe la fagocitosis de macrófagos de las células apoptóticas, se detecta aumentado en las vías respiratorias y la sangre periférica de pacientes con EPOC, correlacionada negativamente con la función pulmonar de los pacientes<sup>58</sup>.

Se sabe que las respuestas agudas e inflamatorias en las vías respiratorias están asociadas con la acumulación de células inmunitarias y estructurales que experimentan apoptosis que deben ser engullidas por fagocitos como los macrófagos y las células epiteliales de las vías respiratorias. Las alteraciones de este proceso conducen a necrosis secundaria y la acumulación de células apoptóticas, la liberación de restos necróticos y la amplificación de la inflamación<sup>58</sup>.



**Figura 7.** Activación del inflammasoma por el humo del cigarrillo y producción de IL-1 $\beta$  e IL-18, mediada por activación de caspasa-1 (Ingel K. et. Al. (2006))<sup>58</sup>.

Las células epiteliales, endoteliales e inmunes apoptóticas a menudo se observan en el pulmón de pacientes con EPOC. Por lo tanto, es probable que exista un defecto en la captación de células epiteliales bronquiales apoptóticas y neutrófilos por los macrófagos en pacientes con EPOC, que actualmente fuman en comparación con los no fumadores y los sujetos sanos. Sin embargo, los mecanismos precisos y la relevancia biológica de la piroptosis requieren una mayor investigación para definir su papel en la inflamación crónica mediada por inflamasoma en la EPOC<sup>52,58</sup>.

En este escenario, la activación persistente de NLRP3, así como su sobreexpresión en las células reclutadas y residentes de tejidos pueden promover enfermedades crónicas<sup>52,58</sup>.

La inhalación experimental de tabaco muestra que la inhibición de la caspasa-1 disminuye significativamente la inflamación de las vías respiratorias, lo que implica la participación del inflamasoma en la patogénesis de la EPOC<sup>58</sup>.

Se ha puesto especial énfasis en el papel del NLRP3, cuya ausencia genética reduce la resistencia respiratoria inferior, característica de la EPOC. NLRP3 en ratones knock-out expuestos al HC muestran una menor activación de caspasa-1 y la posterior liberación menor de IL-1  $\beta$  / IL-18 y la afluencia de neutrófilos en el LAB. (Figura 7)<sup>58</sup>.

En relación con el inmunoproteosoma, éste se expresa constitutivamente en las células hematopoyéticas e induce células no inmunes durante una infección viral. Tiene un papel importante en la generación de péptidos antigénicos para las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad I (MCHC-I) y en la activación de las LT CD8+, en las vías de señalización por IFN- $\gamma$  y NF- $\kappa\beta$  que contribuyen, a la regulación de la producción de citoquinas proinflamatorias y al manejo del estrés oxidativo<sup>52</sup>.

Podemos sugerir una interacción entre el inflamasoma y el inmunoproteosoma, que alterada favorecería las exacerbaciones de la EPOC y la carencia de respuesta terapéutica<sup>52</sup>.

## **Estrés oxidativo, bronquitis crónica y expresión del gen de la mucina en la EPOC**

La EPOC es una enfermedad que abarca varios fenotipos: enfisema, obstrucción, obliteración de las vías aéreas pequeñas, y bronquitis crónica (BC)<sup>2</sup>.

De esta forma, la mayoría de los pacientes con EPOC tienen BC, diagnóstico que se asocia a un mayor riesgo de muerte por enfermedad respiratoria<sup>2</sup>.

Los pacientes con BC tienen un mayor riesgo de exacerbaciones y más síntomas respiratorios debido a la obstrucción de las vías aéreas por mucus<sup>2</sup>.

La obstrucción de las vías aéreas en la BC se debe a varios factores potenciales, entre ellos:

- Las células ciliadas se lesionan por las enzimas proteasas y agentes oxidativos, resultando en la alteración del barrido mucociliar<sup>2</sup>.
- Hay un aumento de la producción y secreción de los principales componentes del mucus: mucina y glicoproteínas; específicamente, dos *MUC5AC* y *MUC5B*, se incrementan en la vía aérea<sup>2</sup>.
- Hipertrofia e hiperplasia de las glándulas submucosas y epiteliales<sup>2</sup>.
- La presencia de proteínas plasmáticas, glucosaminoglicanos, proteoglicanos, lípidos, células inflamatorias y patógenos en el mucus de las vías aéreas cambian las propiedades biofísicas normales de éste<sup>2</sup>.

El estrés oxidativo, generado por el HC, el aumento de las EROS a partir de las células inflamatorias y actividad mitocondrial disfuncional de parte de las células residentes en el tracto respiratorio, regulan la expresión génica de la mucina y la metaplasia de las células mucosas<sup>2</sup>.

El HC regula al alza la expresión *MUC5AC* mediante el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR). Este también modula el aumento de IL-8, que puede funcionar como un mediador autocrino/paracrino de *MUC5AC*<sup>2</sup>.

Constituyentes del HC, incluyendo aldehídos (por ejemplo, acroleína) y peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), también aumentan la síntesis de mucina. La producción de esta proteína inducida por acroleína está mediada por metaloproteinasas de matriz (MMP) 9 y por MMP14<sup>2</sup>.

Del mismo modo,  $H_2O_2$  regula el alza en la expresión de ARNm *MUC5AC* por un mecanismo dependiente de NADPH oxidorreductasa-4 (NOX4)<sup>2</sup>.

Se ha observado, que NE regulan además la expresión génica *MUC5AC*, mediante una vía dependiente de EROS y catalizado por la actividad NADPH quinona-oxidorreductasa1 (NQO1)<sup>2</sup>.

Es importante destacar que el HC también sostiene la metaplasia de células caliciformes mediante la supresión de BIK (Gen BIK), una molécula pro-apoptótica. Por lo tanto, se produce una inhibición de la apoptosis en las células mucosas<sup>2</sup>.

### **Regulación genética y epigenética del estrés oxidativo en la EPOC**

La expresión de al menos dos genes regulados por el aumento de agentes oxidantes se ha descrito en la EPOC. Estos incluyen a CYP2C 18, P450, y el receptor de hidrocarburo arilo receptor nuclear translocador de tipo 2 (*ARNTL2*), un factor de transcripción hélice-bucle-hélice básico que es activo bajo condiciones de disminución en la presión de oxígeno<sup>2</sup>.

Varias mutaciones genéticas en los genes antioxidantes están relacionadas con la gravedad de la EPOC. Los polimorfismos en glutatión S transferasa (*GST*) M1, *SGPC1*, superóxido dismutasa 3 (*SOD3*), y epóxido hidrolasa microsomal (*EPHX1*) están asociados con una disminución más rápida de la función pulmonar en la EPOC<sup>2</sup>.

Las vías reguladoras epigenéticas también son activadas por el estrés oxidativo<sup>2</sup>.

El efecto de los miARNs (micro ARN) en las vías de señalización en la EPOC varía con la fuente de la muestra y el mecanismo de regulación. Un buen ejemplo

de esta complejidad es la biología de miR-199a-5p en la EPOC. Un informe demuestra que el aumento de la expresión de miR-199a-5p en el tejido pulmonar de los pacientes con EPOC se correlaciona con un aumento del factor de hipoxia-inducible (HIF)-1 $\alpha$  y el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF)<sup>2,21</sup>.

Otro informe reciente demuestra que la metilación del promotor de miR-199a-5p en monocitos ocurre en los pacientes sintomáticos de  $\alpha$ 1-antitripsina, dando como resultado la supresión de la expresión de este gen y posterior regulación negativa de la proteína desplegada. Ambas vías que participan en miR-199a-5p originan enfisema, pero los mecanismos son muy diferentes<sup>2</sup>.

El HC reduce la regulación de las histonas desacetilasas (HDAC), dando como resultado una disminución de la actividad antioxidante y un aumento de la actividad proteasa. La HDAC2 está disminuida en macrófagos y tejido pulmonar, en pacientes con EPOC, lo que se asocia con una menor acetilación de H4 localizada en el promotor de regulación negativa de la IL-8<sup>2</sup>.

En la actualidad se han realizado enormes progresos en la investigación acerca de la incidencia de los factores ambientales y genéticos en la EPOC y BC<sup>2</sup>.

Es así como hoy se conoce que existen varios genes diana que aumentan la susceptibilidad al desarrollo de la EPOC a través de vías mediadas por los agentes oxidantes<sup>2</sup>.

### **Estrés oxidativo en la EPOC y radicales endógenos**

El estrés oxidativo se define como la falta de equilibrio entre la producción de especies reactivas de oxígeno/nitrógeno (EROS/ERNS) y la capacidad del organismo para contrarrestar su acción mediante los sistemas de protección antioxidante<sup>59</sup>.

El estrés oxidativo surge de una generación aumentada de EROS/ ERNS o de una disminución de la capacidad de protección antioxidante, que se caracteriza por la capacidad reducida de los sistemas endógenos para luchar contra el ataque

oxidativo dirigido hacia las biomoléculas diana. Su severidad se asocia con diversas patologías como la cardiovascular, el cáncer y el envejecimiento<sup>59</sup>.

El daño inducido por los radicales libres (RL) en el estrés oxidativo se ha observado como un contribuyente a la patogénesis de muchos problemas crónicos de salud, como la neurodegeneración (parkinson, alzheimer, enfermedad de huntington y esclerosis lateral amiotrófica), EPOC, enfermedades cardiovasculares e inflamatorias y cáncer. Se ha evaluado que el estrés oxidativo se correlaciona con más de 100 enfermedades, ya sea como fuente o resultado<sup>59</sup>.

El oxígeno posee un rol primordial en este proceso, ya que tiene la extraordinaria capacidad de oxigenar otras moléculas, puede romper enlaces químicos y fragmentar moléculas en unidades más pequeñas. Es así como se generan los agentes radicales por transferencia electrónica que a su vez pueden oxidar otras moléculas, en una reacción en cadena auto limitada<sup>59</sup>.

El oxígeno molecular ( $O_2$ ) contiene dos electrones no apareados, por lo que es un di radical. Sin embargo, tiene solamente un potencial oxidativo débil comparado con algunos de sus potentes metabolitos dañinos de las células (tabla 1)<sup>9</sup>.

Tabla 1: Radicales libres y su contribución oxidativa (Wolfgang D. et al. (2014))<sup>9</sup>.

Table 1 Free radicals (ROS, RNS) as contributors to oxidative stress		
Name	Formula	Characteristics
Hyperoxide/superoxide	$^{\bullet}\text{O}_2^-$	Highly unstable, signaling function, synaptic plasticity
Hydrogen peroxide	$\text{H}_2\text{O}_2$	Cell toxicity, signaling function, generation of other ROS
Hydroxyl radical	$^{\bullet}\text{OH}$	Free radical, highly unstable, very reactive agent
Alkoxyl radical	$\text{RO}^{\bullet}$	Free radical, reaction product of lipids
Peroxyl radical	$\text{ROO}^{\bullet}$	Free radical, reaction product of lipids
Hypochlorite anion	$\text{OCl}^-$	Reactive oxygen species, reactive chlorine species, enzymatically generated by myeloperoxidase
Singlet oxygen	$^1\text{O}_2$	Induced/excited oxygen molecule, radical and nonradical form
Ozone	$\text{O}_3$	Environmental toxin
Nitric oxide	$^{\bullet}\text{NO}$	Environmental toxin, endogenous signal molecule
Peroxynitrite	$\text{ONOO}^-$	Highly reactive reaction intermediate of $^1\text{O}_2$ and $^{\bullet}\text{NO}$
Nitrogen dioxide	$^{\bullet}\text{NO}_2$	Highly reactive radical, environmental toxin
Nitrogen oxides	$\text{NO}_x$	Environmental toxins, including $\text{NO}$ and $^{\bullet}\text{NO}_2$ , derived from the combustion process

Abbreviations: RNS, reactive nitrogen species; ROS, reactive oxygen species.

Los RL son compuestos químicos inorgánicos u orgánicos con uno o más electrones no apareados, simbolizados por un punto ( $\bullet$ ), que tienden a ser muy reactivos y de corta vida media<sup>9</sup>.

El radical superóxido ( $\text{O}_2^{\bullet}$ ) y el radical hidroxilo ( $\text{OH}^{\bullet}$ ), son RL muy reactivos y tienen una importancia biológica particular. Las fuentes más importantes del radical superóxido ( $\text{O}_2^{\bullet}$ ) son las mitocondrias y el retículo endoplásmico<sup>5,9</sup>.

En las mitocondrias, la generación de  $\text{O}_2^{\bullet}$  se basa en la cadena transportadora de electrones que funcionan de forma imprecisa y también de fugas en este organelo<sup>9,59</sup>.

La mayoría de las EROS celulares, son formas parcialmente reducidas del oxígeno molecular y sus derivados se originan a partir de una reacción de reducción del electrón que produce el  $\text{O}_2^{\bullet}$ . Esta reacción incompleta ocurre como resultado de

una fuga de electrones durante el proceso de respiración celular, en los complejos mitocondriales de la cadena transportadora de electrones (CTE)<sup>60</sup>.

Se sabe que el  $O_2^{\cdot-}$ , se combina rápidamente con el óxido nítrico (NO) a una tasa de difusión autolimitada para formar el peroxinitrito ( $ONOO^-$ )<sup>60</sup>.

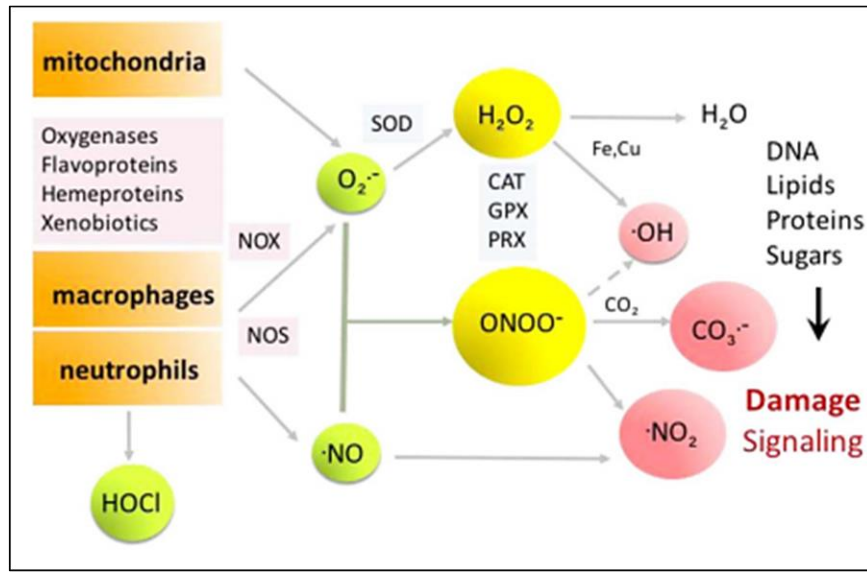
El  $O_2^{\cdot-}$  puede protonarse para formar el radical hidropéroxilo ( $OH_2^{\cdot-}$ ), el cual promueve; la peroxidación lipídica y posterior modificación oxidativa de proteínas, tioles de bajo peso molecular y lípidos de membrana. También, puede reducirse a peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) de forma espontánea o mediante la acción de la enzima superóxido dismutasa (SOD) (figura 8)<sup>60</sup>.

El  $O_2^{\cdot-}$  puede ser producido también por enzimas como la xantina oxidasa y NADPH oxidasa 4 (NOX 4). Debido a su carga iónica este radical no atraviesa fácilmente los compartimentos intracelulares, aunque los estudios con mitocondrias aisladas proporcionan evidencia que  $O_2^{\cdot-}$  se escapa de este organelo a través de canales iónicos dependiente de voltaje<sup>60</sup>.

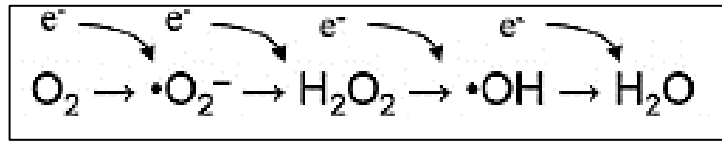
Dadas estas y otras propiedades el  $O_2^{\cdot-}$  juega un papel esencial en los procesos de señalización redox, coordinando, por ejemplo, las respuestas celulares a la producción de oxidantes, mediante la oxidación reversible de tioles proteicos. Sin embargo, en exceso puede sobre oxidarlos, reaccionar con metales libres para formar  $OH^{\cdot}$ , provocar peroxidación de lípidos y contribuir al estrés oxidativo celular<sup>60</sup>.

El radical  $OH^{\cdot}$  es uno de los agentes químicos más reactivos. Puede actuar como un agente fisiológico intracelular que, en exceso, se considera como un factor de riesgo para varias enfermedades respiratorias. Este radical puede entrar en una reacción en cadena con moléculas orgánicas, donde cada reacción tiene como producto un nuevo  $RL^{\cdot}$ .

La generación de radicales  $OH^{\cdot}$  se inicia mediante reacciones de iones metálicos con el peróxido de hidrógeno (reacción de Fenton), radiación ionizante o por exposición al ozono<sup>9</sup>.



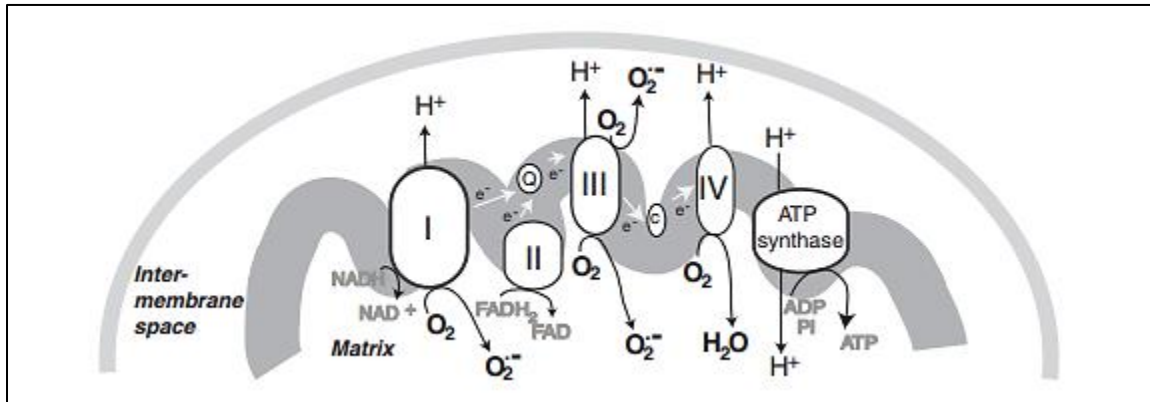
**Figura 8.** Producción de RL, enzimas mediadoras y vías de interacción biológicas (Chiara C. et al. (2017))<sup>59</sup>.



**Figura 9.** Cadena de óxido-reducción y generación de EROS (Bartesaghi S. et al. (2018))<sup>60</sup>.

Dentro de la mitocondria, los componentes de la CTE residen en la membrana interna (figura 10). Durante la respiración celular, los electrones se transfieren al  $O_2$  molecular a través de los cuatro complejos de la CTE para generar  $H_2O$  mientras se produce el bombeo de protones ( $H^+$ ) al espacio intermembrana en el complejo I (NADH deshidrogenasa), complejo III (citocromo c reductasa) y complejo IV (citocromo C oxidasa). Este gradiente de  $H^+$  es el principal contribuyente del potencial de membrana mitocondrial interna<sup>60</sup>.

El flujo de retorno de protones en la matriz a través del complejo ATP sintasa, potencia la síntesis de ATP a partir de ADP y fosfato inorgánico<sup>60</sup>.



**Figura 10.** Composición de la CTE y formación de  $O_2^{\bullet-}$  (Bartessaghi S. et al. (2018))<sup>60</sup>.

Durante la respiración celular, entre un 1 y 2 % del  $O_2$  se convierte en  $O_2^{\bullet-}$  debido a la fuga de electrones del complejo I o del complejo III. Algunas estimaciones indican que el 70% -80% del  $O_2^{\bullet-}$  mitocondrial surge del ciclo Q, como parte de la transferencia de electrones al citocromo c catalizado por el complejo III<sup>60</sup>.

Durante este ciclo, el  $O_2^{\bullet-}$  se puede liberar en la matriz mitocondrial o en el espacio intermembrana debido a la localización bifacial de los sitios de unión de Q al complejo III dentro de la membrana interna. Otros informes sugieren que la mayoría del  $O_2^{\bullet-}$  mitocondrial proviene del complejo I durante la oxidación de NADH a  $NAD^{+60}$ .

El papel real del complejo I o III en el flujo de  $O_2^{\bullet-}$  puede depender de múltiples factores, incluidos el tipo de célula y el estado metabólico. Por ejemplo, el exceso de reducción de  $NAD^+$  (relación  $NADH/NAD^+$  incrementada) mejora la generación de  $O_2^{\bullet-}$  del complejo I a través de la actividad NADH-ubiquinona reductasa<sup>60</sup>.

Otras subunidades de la CTE pueden ser modificadas de manera similar por mecanismos redox para modular el transporte de electrones y modificar la producción de  $O_2^{\bullet-}$  en las mitocondrias. La acetilación de los complejos I y II, por ejemplo, que están regulados por las desacetilasas o sirtuinas dependientes de  $NAD^+$  (SIRT) localizadas en las mitocondrias, pueden modular las actividades del complejo I y II para alterar el ciclo de respiración celular y la producción de EROS<sup>60</sup>.

Los blancos (dianas) de los RL, son de preferencia las biomoléculas, dentro de las cuales encontramos; fosfolípidos y ácidos grasos poliinsaturados de membranas celulares, proteínas y ADN<sup>61</sup>.

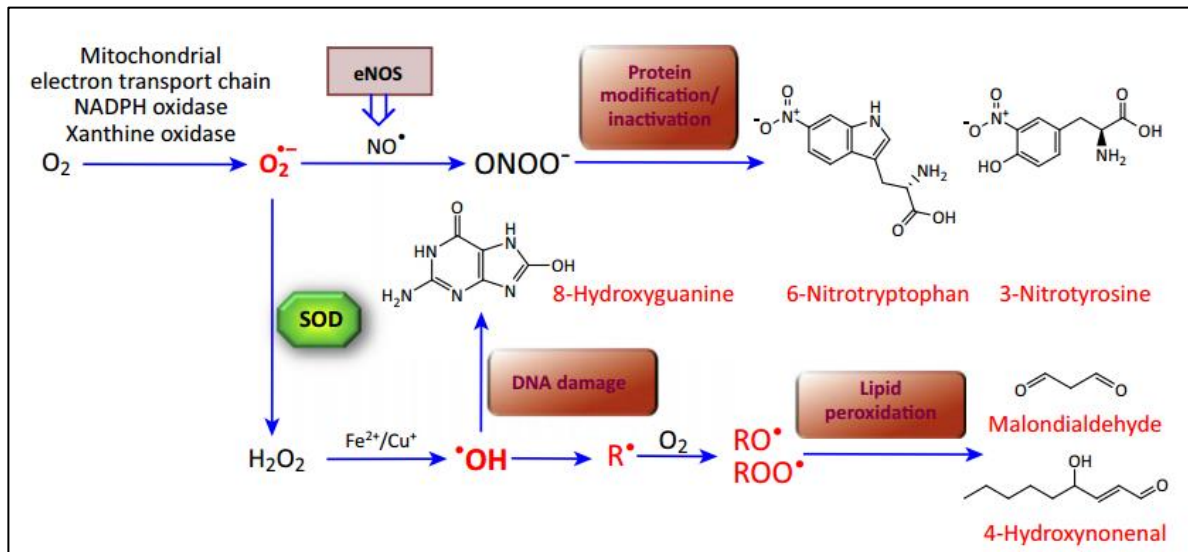
**Lípidos:** Es aquí donde se produce el daño mayor en un proceso que se conoce como peroxidación lipídica, afecta a las estructuras ricas en ácidos grasos poliinsaturados, ya que se altera la permeabilidad de la membrana celular produciéndose edema y muerte celular. La peroxidación lipídica representa una forma de daño que puede ser desencadenado por el  $O_2$ ,  $^1O_2$ ,  $O_2^{\cdot-}$  y  $OH^{\cdot}$ <sup>61</sup>.

Los ácidos grasos insaturados son componentes esenciales de las membranas celulares, por lo que se cree son importantes para su funcionamiento normal, sin embargo, son vulnerables al ataque oxidativo iniciado por los radicales libres del oxígeno<sup>61</sup>.

Una vez que se inicia el proceso, toma forma de “cascada” con producción de RL que lleva a la formación de peróxidos orgánicos y otros productos, a partir de los ácidos grasos insaturados; una vez formados, estos radicales libres son los responsables de los efectos citotóxicos<sup>61</sup>.

Dentro de los productos de la oxidación lipídica se encuentran; la formación de: radical alcoxi y peroxilo ( $RO^{\cdot}$ ,  $ROO^{\cdot}$ ), malondealdeído (MDA) y 4 hidroxinonenal (4-HNE) (figura 11) <sup>61</sup>.

**Proteínas:** Hay oxidación proteica de un grupo de aminoácidos como fenilalanina, tirosina, histidina y metionina, además se forman entrecruzamientos de cadenas peptídicas y por último hay formación de grupos carbonilos. Dentro de estos se encuentran la nitrotirosina 3 y 6 nitrotriptófano (figura 11) <sup>61</sup>.



**Figura 11.** Dianas de EROS/ERNS y formación de subproductos de estrés oxidativo (biomarcadores) (Venereo J. (2002))<sup>62</sup>.

**Ácido desoxirribonucleico (ADN):** Otro blanco predilecto de las EROS corresponde al ADN, en donde ocurren fenómenos de mutaciones y carcinogénesis, pérdida de expresión o síntesis de proteínas por daño a un gen específico, modificaciones oxidativas de las bases nitrogenadas, deleciones, fragmentaciones, interacciones estables ADN-proteínas, reordenamientos cromosómicos y metilación del ADN<sup>61,62</sup>.

El daño se puede realizar por la alteración, inactivación y/o pérdida de algunos genes supresores de tumores que pueden conducir a la iniciación, progresión, o ambas de la carcinogénesis. Los genes supresores de tumores pueden ser modificados por un simple cambio en una base crítica de la secuencia del ADN<sup>61,62</sup>.

Dentro de los subproductos de daño al ADN, el 8-hidroxiguanosina (8-OHG) (figura 10) es uno de los más importantes<sup>61,62</sup>.

El sistema de defensa antioxidante está constituido por un grupo de sustancias que, al estar presentes en concentraciones bajas con respecto al sustrato oxidable, retrasan o previenen significativamente la oxidación de este. Como sustrato oxidable se pueden considerar casi todas las moléculas orgánicas o

inorgánicas que se encuentran en las células vivas, como proteínas, lípidos, hidratos de carbono y las moléculas de ADN<sup>61</sup>.

Los antioxidantes impiden que otras moléculas se unan al oxígeno, al reaccionar-interactuar más rápido con los RL y las EROS que con el resto de las moléculas presentes en un determinado microambiente (membrana plasmática, citosol, núcleo o líquido extracelular). La acción del antioxidante es de sacrificio de su propia integridad molecular para evitar alteraciones de moléculas, lípidos, proteínas, ADN, etc.<sup>61</sup>.

Actúan como eliminadoras (Scavengers), con el objetivo de mantener el equilibrio oxidante/antioxidante a favor de estos últimos. Los antioxidantes exógenos actúan como moléculas suicidas, ya que se oxidan al neutralizar al RL, por lo que la reposición de ellos debe ser continua, mediante la ingesta de los nutrientes que los contienen<sup>61</sup>.

Dentro del espectro antioxidante se encuentran:

**Catalasa (CAT):** Tiene una amplia distribución en el organismo humano, alta concentración en hígado y riñón, baja concentración en tejido conectivo y epitelios, prácticamente nula en tejido nervioso y se localiza a nivel celular en; mitocondrias, peroxisomas y citosol (eritrocitos). Presenta 2 funciones fundamentales; catalítica y peroxidativa y forma parte del sistema antioxidante CAT/SOD que actúa en presencia de altas concentraciones de  $O_2^{\cdot-}$ <sup>61</sup>.

**Glutación peroxidasa (GPx):** Es una enzima selenio dependiente, cataliza la reducción de  $H_2O_2$  a lipoperóxido (L-OOH), usa como agente reductor el glutati6n reducido (GSH) y se localiza en; citosol (eritrocitos) y lisosomas (NE, macrófagos y otras células del sistema inmune)<sup>61</sup>.

Existen 3 formas de GPx: GPx-c o forma celular la cual tiene mayor afinidad por el  $H_2O_2$  que por el L-OOH; GPx -p o forma extracelular: presenta afinidad semejante para ambos sustratos y GPx-PH que posee afinidad específica para los L-OOH<sup>61</sup>.

**Superóxido dismutasa (SOD):** Su distribución es amplia en el organismo, está formada por un grupo de enzimas metaloides; CuSOD y Zn-SOD, contienen cobre y cinc en su sitio activo y se encuentran en el citosol y en el espacio intermembranoso mitocondrial<sup>61</sup>.

Mn-SOD: contiene manganeso y se localiza en la matriz mitocondrial. Fe-SOD: contiene hierro y se localiza en el espacio periplasmático de la E. Coli<sup>61</sup>.

Estas enzimas dismutan el O<sub>2</sub> para formar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y su principal función es la protección contra el O<sub>2</sub><sup>-61</sup>.

El estrés oxidativo se ha entendido como una cantidad excesiva de EROS, que es el resultado de un desequilibrio entre la generación y el agotamiento de las defensas antioxidantes. Por lo tanto, el estrés oxidativo es la repercusión de una mayor incidencia de RL<sup>9, 61</sup>.

Las EROS en bajas cantidades representan moléculas de señalización, que están implicadas en la regulación de la proliferación celular, la apoptosis y la expresión génica al desencadenar factores de transcripción. Su generación por los fagocitos es esencial en el mecanismo de defensa contra diversas cepas de bacterias u hongos<sup>9,61</sup>.

El estrés oxidativo y la EPOC están estrechamente relacionados por varios mecanismos. El más importante de ellos induce un aumento de la expresión de los genes proinflamatorios que contribuyen a la inflamación crónica en la EPOC, tal y como lo describe la siguiente tabla:

Tabla 2: EROS y su impacto en la EPOC (Wolfgang D. et al. (2014))<sup>9</sup>

<b>Table 2 ROS-related hallmarks impacting COPD</b>	
<b>Mechanism</b>	<b>Outcome</b>
Imbalance of proteases/ antiproteases	Inactivation of antiprotease shield ( $\alpha_1$ AT, SLPI) Activation of metalloproteinases
Molecular mechanisms	Increased gene expression
• Upregulation of gene transcription (NF- $\kappa$ B, AP-1)	of inflammatory mediators and cytokines (IL-1, TNF $\alpha$ , IL-8, GM-CSF, iNOS)
• Increase of cellular cytokine production in the lung	Steroid resistance
• Signal transduction	Airway remodeling
Nuclear histone acetylation/ deacetylation balance	Chronic inflammation Decreased histone deacetylase 2
Remodeling of DNA/chromatin	
<b>Abbreviations:</b> COPD, chronic obstructive pulmonary disease; iNOS, inducible nitric oxide synthase isoenzymes; ROS, reactive oxygen species; SLPI, secretory leukocyte protease inhibitor; $\alpha_1$ AT, alpha-1-antitrypsin; IL-1, interleukin 1; TNF- $\alpha$ , tumor necrosis factor alpha; IL-8, interleukin-8; GM-CSF, granulocyte macrophage colony-stimulating factor.	

## Humo de cigarrillo y radicales exógenos

Con una gran superficie de 80-100 m<sup>2</sup> y una ventilación de volúmenes diarios de 10.000 a 20.000 Litros, los pulmones son muy susceptibles a las lesiones provocadas por EROS<sup>9</sup>.

La situación es drástica en fumadores, ya que HC es el principal factor de riesgo prevenible para el desarrollo de la EPOC, el cual contiene unos 5.000 diferentes compuestos químicos, así como una alta concentración de oxidantes diferentes y RL. Esta carga oxidante del medio ambiente se ve aumentada por la liberación adicional de oxidantes endógenos de un gran número de células inflamatorias de las vías respiratorias<sup>9</sup>.

Además del cigarrillo con altos contenidos de RL exógenos, la contaminación urbana (biomasa), la contaminación atmosférica industrial y ocupacional proporcionan diversos oxidantes que probablemente son responsables de las altas tasas de prevalencia de EPOC en no fumadores en los países en desarrollo<sup>9</sup>.

Una de las vías más importantes para la EPOC se describe como el desbalance entre la alta carga radical con una baja contraparte antioxidante. En este contexto, el HC provoca una elevada carga oxidante y una marcada disminución de la capacidad antioxidante. Esta es la razón por la cual los agentes oxidantes pueden inactivar a la enzima  $\alpha$ -1 proteinasa inhibidora mediante la reducción de su capacidad para unir sustratos como la elastasa de los NE<sup>9</sup>.

No obstante, el proceso inflamatorio por sí mismo causa estrés oxidante dado que existe un gran potencial para generar EROS. Por lo tanto, los fumadores corren el riesgo de desarrollar EPOC, y no responder al tratamiento de la enfermedad<sup>9</sup>.

En el inicio del desarrollo de la EPOC también se señala el importante papel desempeñado por los oxidantes exógenos que se inhalan en cigarrillos activos y pasivos (aldehídos,  $\text{NO}_2^*$ ,  $\text{SO}_2^-$ ). Enzimas tales como la elastasa son liberadas en exceso por los NE y son usualmente inactivadas por la pantalla protectora de las antiproteasas en el pulmón, para que no sean capaces de atacar y destruir las valiosas fibras elásticas del tejido pulmonar. Los oxidantes dañan la pantalla de elastasa facilitando su acción de degradación<sup>9</sup>.

La degradación de las fibras elásticas es un proceso implacable que termina en enfisema<sup>9</sup>.

Una sobrecarga de especies reactivas exógenas y endógenas contribuyen al desequilibrio en el estado redox en fumadores y pacientes con EPOC. Este equilibrio distorsionado entre oxidantes y antioxidantes puede dañar el pulmón, afectando la síntesis de la elastina, así como su reparación<sup>9</sup>.

El potencial de la exposición al humo ambiental disminuye la actividad antioxidante, lo que se demostró en un estudio de fumadores, fumadores pasivos y no fumadores. El estudio reveló que el antioxidante  $\beta$ -caroteno y ácido ascórbico (vitamina C) fueron significativamente más bajos en fumadores activos y pasivos que en los no fumadores. Los niveles de antioxidantes en la población estudiada, sin embargo, no estaban relacionados con diferencias en el régimen nutricional, la

ingesta de antioxidantes u otros factores como la edad, el sexo, la etnia, la masa, índice de masa corporal, consumo de alcohol o consumo de frutas y verduras<sup>10</sup>.

Recientemente, se ha demostrado que el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) también parece estar implicado en la patogénesis de la EPOC. Existe evidencia de que VEGF y VEGF-2 (receptor) podría estar sobre expresado en fumadores con bronquitis causada por la regulación positiva de HIF-1 $\alpha$  (factor- $\alpha$  inducible por hipoxia), amplificando de esta forma la respuesta inflamatoria<sup>9</sup>.

NRF2, otro factor de transcripción sensible al redox que induce la expresión de antioxidantes, se asoció negativamente con la gravedad EPOC, dado que se ha correlaciona con el déficit de su expresión de la barrera antioxidante<sup>9</sup>.

### **Generación de oxidantes con la exposición al humo de cigarrillos.**

Las temperaturas de combustión de un cigarrillo fluctúan entre 800°C -950°C y desencadenan la pirolisis completa del tabaco<sup>2</sup>.

Sin embargo, inmediatamente después se produce un descenso en la temperatura entre 200°C – 600°C que junto con la disminución de oxígeno genera una combustión incompleta. Posteriormente, se presenta un aerosol complejo durante el fumado, que incluye gotitas líquidas condensadas (fracción o partículas de alquitrán) suspendidas en una mezcla de compuestos volátiles/semivolátiles y combustión de gases<sup>2</sup>.

En una sola bocanada de dicho humo de cigarrillo se cuantificó una cantidad de 1017 radicales libres en la fase de alquitrán y 1015 en la fase gaseosa<sup>2,42</sup>.

Numerosos compuestos oxidantes han sido identificados entre los 4.000 a 7.000 constituyentes del humo del cigarrillo<sup>2,42</sup>.

En la fracción particulada se han reconocido, fenoles y semiquinonas, mientras el O<sub>2</sub><sup>•-</sup>, epóxidos, peróxidos, NO, dióxido de nitrógeno y peroxinitrito se concentran en la fase gaseosa<sup>2,42</sup>.

Los agentes oxidantes, incluido  $\text{H}_2\text{O}_2$ , se pueden medir directamente en partículas del humo del cigarrillo, así como también los metales, aunque las concentraciones de estos son bajas<sup>2</sup>.

Los fagocitos (macrófagos y neutrófilos) son elevados en fumadores, tanto en la circulación sistémica, como en el pulmón, y generan EROS en grandes cantidades<sup>2</sup>.

Los estudios in vitro confirman que los fagocitos de los fumadores liberan espontáneamente cantidades mayores de agentes oxidantes tales como  $\text{O}_2\cdot^-$  y  $\text{H}_2\text{O}_2$  en comparación con los de no fumadores. Siendo la catalasa la enzima responsable de la descomposición de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , la cual se encuentra disminuida en ex-fumadores<sup>15</sup>.

El  $\text{H}_2\text{O}_2$  está elevado en el lavado broncoalveolar y en el condensado de aire exhalado en muestras de fumadores, lo que en parte es atribuible al elevado número de macrófagos en el tracto respiratorio inferior y también al aumento de la liberación de  $\text{O}_2\cdot^-$ <sup>2</sup>.

El consumo de cigarrillos, también se ve asociado con una disminución en la concentración y actividad de los antioxidantes. Es así como las tasas de vitaminas C y E son menores en los fumadores, detectándose un déficit de entre un 15 - 20% de concentraciones séricas de vitamina C con relación a los no fumadores. Estos cambios se explican mayormente por una proporción elevada de estrés oxidativo en lugar de una disminución en la ingesta dietética<sup>2</sup>.

El metabolismo del glutatión parece ser particularmente estimulado por el tabaquismo. A pesar de que esta enzima se ve agotada agudamente en las células de los fumadores, los niveles de glutatión reducido se encuentran en gran cantidad en el lavado broncoalveolar de los fumadores crónicos. En este sentido, se ha propuesto que tal aumento del glutatión pulmonar en los fumadores puede ser un intento, para contrarrestar el exceso de producción de oxidantes después de la exposición al HC<sup>2</sup>.

Por otra parte, los antioxidantes exógenos parecen tener una capacidad para prevenir parte del efecto biológico y las lesiones provocadas por el tabaquismo<sup>2</sup>.

De acuerdo con lo anterior, existen estudios que sugieren que las vitaminas C y E disminuyen la producción de oxidantes por parte de las células inflamatorias y mejorarían la función pulmonar en fumadores<sup>2,15,16</sup>. La suplementación con N-acetil cisteína (NAC) también disminuye la citotoxicidad in vitro después de la exposición al HC<sup>2,17</sup>.

El HC es también una fuente de ERNS y estrés nitrosante. El NO es abundante en el HC, este tiene potentes propiedades antioxidantes y antiinflamatorias; sin embargo, contribuye también a la modulación de reacciones oxidativas. Asimismo, NO reacciona con los grupos tioles para producir nitrosotioles asociados con efectos biológicos, demostrándose que esta reacción se encuentra elevada en las mediciones de aire condensado en sujetos fumadores en contraposición a los no fumadores<sup>2,18</sup>.

El NO en el HC puede reaccionar con  $O_2^{\cdot-}$  para formar peroxinitrito, el cual disminuye la capacidad antioxidante y aumenta el estrés oxidativo. El NO y el peroxinitrito pueden causar la nitración de la tirosina para formar productos de nitrotirosina de proteínas medibles en fluidos y tejidos corporales. No obstante, hay que señalar que los niveles de NO en los fumadores también han sido reportados como normales o incluso menores en relación con los no fumadores<sup>2,19</sup>.

Los NE de los fumadores liberan más oxidantes que los aislados de sujetos sanos. La propuesta de que oxidantes en el HC, ya sea en la fase gaseosa, pasan a través de la pared alveolar pulmonar a la sangre para inducir un estrés oxidativo sistémico diseminado es improbable, ya que tales radicales reaccionarían rápidamente con moléculas del tejido pulmonar<sup>2,20</sup>.

## **Biomarcadores de estrés oxidativo en la EPOC**

Ha continuado siendo difícil evaluar y monitorear el estrés oxidativo con el objetivo de proporcionar las propiedades antioxidantes necesarias de apoyo<sup>9</sup>.

Dado que las ERNS son altamente reactivas, cuantificarlas sigue siendo un desafío. Una amplia gama de diferentes materias primas, como aire exhalado, condensado de aire exhalado, esputo, suero/plasma, biopsias endobronquiales o secciones de pulmón se han utilizado para determinar y cuantificar la oxidación. En la EPOC, estos materiales difieren considerablemente en disponibilidad y significado<sup>9</sup>.

Una serie de marcadores han sido utilizados para determinar el estrés oxidativo. Uno de los biomarcadores comúnmente determinados es H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> plasmático, que se encuentra aumentado en la EPOC y en las exacerbaciones agudas de la enfermedad. La concentración de este marcador en el condensado de aire exhalado (CAE) se ha medido y también se ha encontrado elevado en pacientes que la presentan. Por desgracia, este biomarcador no es muy específico ni indicativo de esta patología, coincidiendo por ejemplo con valores para los fumadores que no presentan las características clínicas para el diagnóstico de EPOC<sup>9</sup>.

Las muestras del CAE pueden reflejar cambios en las vías aéreas y particularmente en el fluido del revestimiento epitelial, con lo que el factor limitante para la obtención de volúmenes adecuados de este es la capacidad ventilatoria durante un período de tiempo dado<sup>9</sup>.

En este contexto, el 8-isoprostano, que representa producto final de la peroxidación lipídica, se determinó en el CAE con resultados polémicos sobre la relación con las etapas de la EPOC y la variabilidad de los niveles<sup>9</sup>.

Respecto del 8-isoprostano también se ha demostrado que se eleva en pacientes con EPOC en comparación con controles en mediciones del CAE<sup>9</sup>.

El esputo se obtiene de forma no invasiva y es también de interés creciente para determinar marcadores de estrés oxidativo<sup>9</sup>.

En estudios recientes, entre otros eicosanoides, el 8-isoprostano se midió en el esputo, pero desafortunadamente los resultados fueron inconsistentes, siendo reportados tendencias o aumentos significativos durante exacerbaciones agudas de la EPOC en comparación con sujetos estables. Las concentraciones de este biomarcador son también mayores en el esputo inducido tanto de fumadores de cigarrillos asintomáticos como de pacientes con EPOC. Por lo tanto, en el esputo el 8-isoprostano no distingue claramente estos dos grupos<sup>11</sup>.

De manera similar, el 4-hidroxi-2-nonenal, un producto altamente reactivo de peroxidación lipídica se incrementa en las secreciones bronquiales de fumadores con EPOC, pero también está elevado en los fumadores sin EPOC en comparación con los no fumadores<sup>12</sup>.

En el caso del malondialdehído (MDA), no siempre está claro si se han determinado sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) o específicamente MDA<sup>9</sup>.

En el CAE, MDA/TBARS se encontraron aumentados con relación al intervalo de control. MDA puede conducir a la segregación y agregación de proteínas de membrana por reaccionar con grupos amino en proteínas, y puede verse como el producto de descomposición más importante de los ácidos grasos poliinsaturados<sup>13</sup>.

Los productos avanzados de la oxidación de proteínas se utilizan con frecuencia como biomarcadores y se ha encontrado que aumentan en pacientes con EPOC<sup>9</sup>.

Por otro lado, el contenido tiol de proteínas en el plasma se informó ser menor en la EPOC<sup>9</sup>.

De las biopsias endobronquiales, se han investigado los aductos de proteína-MDA y la nitración de proteínas<sup>9,10,11</sup>.

Se encontró que los pacientes con la EPOC tenían un aumento del contenido proteína-carbonilo<sup>9,10</sup>.

Los niveles de Glutación GSH en el líquido del lavado broncoalveolar (BALF) de fumadores y pacientes con EPOC estable en comparación con los no fumadores, han sido elevados. No obstante, se ven reducidos en las exacerbaciones aguda<sup>11,14</sup>.

Los procedimientos de diagnóstico de lavado broncoalveolar (BALF) serían inapropiadamente invasivos para este propósito y menos sensible en la rutina evaluación del estrés oxidativo<sup>10</sup>.

El fluido de revestimiento epitelial (ELF) recogido por el CAE podría ser usado para controlar el estrés oxidativo y la inflamación. Sin embargo, los marcadores sustitutivos (biomarcadores) válidos para la carga del plasma, BALF o ELF no son muy confiables y no reflejan la carga oxidante total<sup>9,10,11</sup>.

En la búsqueda de biomarcadores del estrés oxidativo en general y en la EPOC, en particular, se deben utilizar técnicas que sean reproducibles y reflejen cambios por patología o intervención terapéutica<sup>10,11</sup>.

A pesar de los muchos biomarcadores que han sido investigados por su utilidad clínica para evaluar el estrés oxidativo, ninguno se ha determinado como ideal, ya que de los marcadores descritos no han podido discriminar realmente entre la EPOC y otras patologías inflamatorias tales como asma o neumonía<sup>9,10,11</sup>.

## **Disfunción Muscular en la EPOC: Ejercicio, rol en la atrofia muscular y actividad antioxidante.**

La limitación del flujo aéreo como único factor limitante para la realización del ejercicio fue puesta en duda por Killian et al (2010). Ellos encontraron que, en la EPOC, el factor limitante también correspondía a la fatiga de extremidades inferiores. Por lo tanto, además de la función respiratoria, la función de la musculatura esquelética es también un factor fundamental en la capacidad del ejercicio en pacientes con EPOC<sup>26</sup>.

Al igual que en sujetos sanos, se ha demostrado que el entrenamiento de la musculatura esquelética mejora los cambios asociados al desuso, reduce la pérdida de masa muscular, la disminución del área de sección transversal y atenúa el cambio del tipo de fibra<sup>26</sup>.

Se ha descrito que en pacientes EPOC no sólo sufren atrofia muscular por desuso, sino también por la disfunción muscular (DM) dada por anomalías mitocondriales y por el excesivo estrés oxidativo. Esta disfunción parece estar en parte causada por la inflamación sistémica, una característica patogénica de la EPOC<sup>26</sup>.

Los mediadores inflamatorios parecen afectar a la regulación de las proteínas musculares y su consecuente alteración funcional<sup>26</sup>.

### **Disfunción muscular periférica en la EPOC**

Actualmente, está claro que la fuerza y resistencia de los músculos extensores de rodilla se ven afectados en pacientes con EPOC. Por lo tanto, existe un interesante debate sobre los mecanismos subyacentes en estas afecciones<sup>26</sup>.

En relación con esta discusión, es importante tener en cuenta que la disfunción muscular se divide en 2 componentes. En primer lugar, se produce una pérdida de masa muscular (atrofia) y, en segundo un inadecuado funcionamiento del tejido muscular restante<sup>26</sup>.

Se pensaba inicialmente que el componente de atrofia representaba toda la pérdida de fuerza muscular, lo cual no fue una conjetura extraña, ya que las personas con EPOC pierden masa corporal como resultado de la pérdida relativamente grande de masa muscular. Además, esta primera idea fue apoyada por Bernard et al, quienes encontraron que esta reducción en el área de sección transversal se correlacionaba con la disminución de la fuerza muscular. Esto indicaba que la atrofia en lugar de los defectos funcionales era un determinante importante de la alteración de la fuerza de la musculatura<sup>26,27</sup>.

No obstante, lo anterior, las últimas investigaciones sugieren que además de la atrofia, la disfunción del músculo restante también contribuye en la alteración de su función. Una característica fundamental de esta disfunción es el cambio estructural en el tipo de fibras lentas (Tipo I, oxidativas) al tipo rápidas (Tipo II, glicolíticas)<sup>26,27</sup>.

En consecuencia, los músculos se vuelven menos oxidativos, lo que se traduce en una pérdida de resistencia a la fatiga. Debido a este cambio en la capacidad oxidativa, se puede suponer que también hay alteraciones metabólicas<sup>26</sup>.

### **Inflamación sistémica y disfunción muscular en la EPOC**

Como se ha descrito, es ampliamente reconocido y aceptado que las personas con EPOC sufren de inflamación crónica pulmonar. Esta se caracteriza por la infiltración de células inmunes mononucleares, tales como macrófagos y linfocitos. La acumulación de estas células contribuye a la obstrucción de las vías respiratorias, lo que puede conducir a los síntomas típicos de la EPOC<sup>1,2,26</sup>.

No obstante, estos pacientes sufren además de inflamación sistémica, incluyendo el músculo periférico. Esto se caracteriza por un aumento de los niveles circulantes de las células inflamatorias e induce a un estado de oxidación sistémica<sup>26</sup>.

Hallazgos recientes indican que la inflamación sistémica se asocia con una composición corporal anormal y con la disfunción muscular (DM)<sup>28,29,30</sup>.

Por ejemplo, los niveles séricos de la citoquina inflamatoria TNF- $\alpha$  parecen ser más altos en pacientes con EPOC con masa corporal reducida<sup>29,30,31</sup>.

Otra investigación, indicó que los altos niveles de TNF- $\alpha$  se asocian con una disminución en la capacidad de generar fuerza del cuádriceps. Esto también se cumple para la IL-6, otra citoquina inflamatoria<sup>28</sup>.

En los últimos decenios se han realizado grandes progresos con la ayuda de experimentos en modelos animales. Estos indican que los mediadores inflamatorios son (en parte) responsables del desequilibrio entre la degradación de proteínas y la síntesis<sup>26</sup>.

### **Degradación de las proteínas en la EPOC**

El aumento de la degradación de proteínas activada por factores inflamatorios parece ser responsable de la pérdida de músculo en la EPOC. El TNF- $\alpha$ , es un factor importante que parece estar implicado en esta degradación<sup>26</sup>.

Un estudio encontró una pérdida significativa de volumen en el músculo gastrocnemio en ratas inyectadas con TNF- $\alpha$  en comparación con los animales de control que podría haber sido resultado de la degradación de proteínas iniciado por TNF<sup>32</sup>.

La degradación de proteínas como resultado de la infusión de células mononucleares activadas, que también producen otras citoquinas además de TNF, podrían jugar un papel clave al respecto<sup>26</sup>.

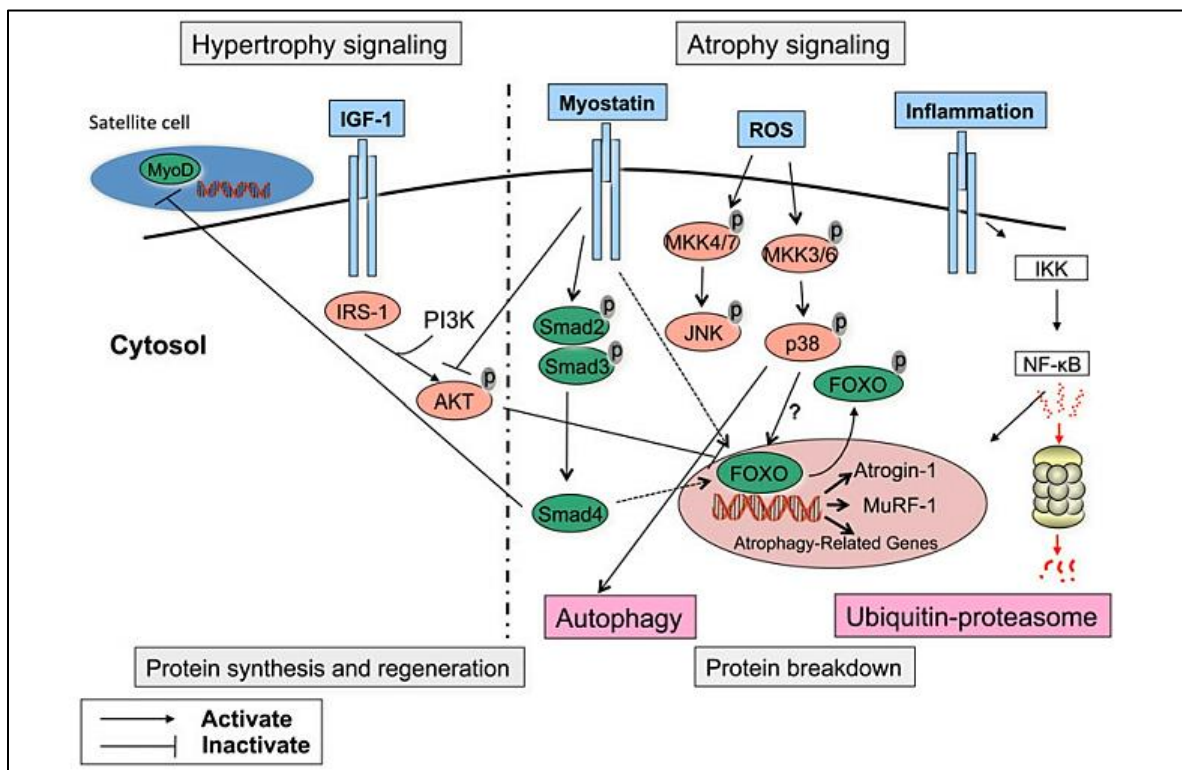
La interleucina (IL-1) podría ser tal mediador, ya que existe evidencia que respalda que, una mezcla de citoquinas de TNF e IL-1 se asoció significativamente con la pérdida de proteínas musculares. Así, aunque desafiado por algunos estudios iniciales, se puede afirmar que (una combinación de) citoquinas inflamatorias parecen mediar la degradación muscular en la EPOC<sup>33</sup>.

Además de los posibles efectos directos de las citoquinas proinflamatorias sobre el desgaste muscular, varios estudios han sugerido que la inflamación

también contribuye a la pérdida muscular a través de la inducción de estrés oxidativo<sup>26</sup>.

En la EPOC las citoquinas inflamatorias pueden inducir la liberación EROS. Esto fue ilustrado por Meier et al. (1987). que mostraron que los fibroblastos humanos producen O<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> cuando se estimula con TNF e IL-1<sup>34</sup>.

No obstante, se sabe que además de los factores antes mencionados, existen mecanismos estudiados, involucrados en las vías de señalización de atrofia muscular en la EPOC (figura 12)<sup>63</sup>.



**Figura 12.** Vías de señalización de atrofia muscular y degradación proteica en la EPOC (Francois M. et al. (2013))<sup>63</sup>.

El mantenimiento de la masa muscular es el resultado de un equilibrio estrecho entre las vías de señalización hipertroficas y atroficas. Un avance importante en la comprensión de la regulación de la proteólisis muscular fue la identificación de dos ligasas de E3 específicas del músculo; atrogina-1 y proteína muscular 1 (MuRF1), que están directamente implicadas en varias condiciones

atróficas. E3 ligasa actúa como el componente de reconocimiento de sustrato del sistema de ubiquitinación, por lo tanto, la prevención de la degradación de proteínas no específicas por el complejo de proteosoma. Es de resaltar que el complejo ubiquitina-proteosoma (UbP) no puede degradar las estructuras contráctiles nativas e intactas<sup>63</sup>.

Los pasos preliminares para alterar el ensamblaje miofibrilar son necesarios antes de que pueda iniciarse la degradación proteica contráctil. Entre ellos, la vía autofagia/lisosomal, ya que puede ser la vía proteolítica más importante en algunos modelos experimentales del músculo en atrofia<sup>63</sup>.

La activación de las ligasas E3 específicas del músculo están bajo el control de varias vías, entre ellas la de Forkhead O (FOXO), la cual aumenta la transcripción nuclear de MuRF1 y atrogina-1 a menos que sean fosforilados e inactivados por AKT. Por el contrario, la actividad deprimida de AKT y la fosforilación de FOXO permitirán la translocación nuclear de FOXO y la inducción de MuRF1 y atrogina-1<sup>63</sup>.

Las citoquinas proinflamatorias pueden activar el NF- $\kappa$ B, que a su vez también puede inducir atrofia a través de la activación de MuRF1<sup>63</sup>.

La ruta de las proteínas kinasas activadas por mitógenos (MAPK) puede desencadenarse por especies ROS y se ha involucrado en la activación del complejo UbP y en el inicio del proceso de caquexia<sup>63</sup>.

Entre los diversos miembros de la familia MAPK, p38 MAPK ha recibido una considerable atención ya que, estimula la expresión de atrogina-1, mientras que su inhibición evita la atrofia muscular<sup>63</sup>.

JNK MAPK también ha sido implicada en el proceso de atrofia en algunos modelos experimentales, aunque su papel es menos convincente en comparación con p38<sup>63</sup>.

La miostatina, un regulador negativo de la masa muscular puede detener el crecimiento muscular mediante la inhibición directa de la actividad kinasa de AKT o, a través de la vía de señalización SMAD, inhibiendo la replicación y diferenciación

de las células satélite bloqueando la actividad del factor de diferenciación miogénico D (MyoD). La miostatina también puede potenciar la degradación dependiente del proteasoma al aumentar la actividad transcripcional de FOXO-1<sup>63</sup>.

La activación de la cascada atrofica es contrarrestada por la respuesta hipertrófica. En este sentido, la importancia de la vía del factor de crecimiento insulínico-1 (IGF-1) para promover el crecimiento muscular se ha apreciado desde hace algunos años. La respuesta de la síntesis de proteínas a IGF-1 está mediada por AKT. En la fosforilación, AKT fosforila varias proteínas cuya activación (mTOR y proteína S6 ribosómica de 70 kinasa) o la inhibición (glucógeno sintasa Kinasa-3 b [GSK3 b]) mejorará la síntesis de proteínas<sup>63</sup>.

El IGF-1 también puede suprimir la degradación de la proteína regulando negativamente la atrogina-1 de nuevo a través de la vía PI3K / AKT, así como la fosforilación y el atrapamiento de FOXO en el citoplasma<sup>63</sup>.

Por otro lado, se piensa la IL-6 es la respuesta más importante después del ejercicio, mientras que en la inflamación hay un papel muy importante para el TNF<sup>26</sup>.

Curiosamente, ya que la IL-6 es el mediador más importante en la respuesta al ejercicio y este se asocia normalmente con la salud. Algunos científicos especulan sobre una posible influencia beneficiosa de esta citoquina proinflamatoria<sup>26</sup>.

Una indicación importante para el posible papel antiinflamatorio de IL-6 es el potencial efecto inhibitor sobre TNF. Sin embargo, la posibilidad de que otros mediadores están involucrados en la regulación de TNF no se puede descartar<sup>26</sup>.

En resumen, no hay consenso sobre la respuesta inflamatoria al ejercicio agudo en la EPOC, ya que la evidencia con respecto a los mediadores inflamatorios IL-6, TNF, leucocitosis y el estrés oxidativo es contradictoria. Sin embargo, esto no es muy sorprendente teniendo en cuenta los diversos factores posibles que podrían influir en los resultados. El tipo, nivel y duración del ejercicio, por ejemplo, parecen influir en el producto de la respuesta de las citoquinas proinflamatorias<sup>26</sup>.

En conclusión, los altos niveles circulantes de citoquinas inflamatorias en la EPOC parecen causar DM a través de un desequilibrio entre la síntesis de proteínas musculares y la degradación. Dado que el ejercicio parece tener un efecto positivo en el equilibrio de proteínas, se planteó la hipótesis de que esto podría ser causada por la disminución de los niveles de citoquinas inflamatorias<sup>26</sup>.

A pesar de que el ejercicio agudo provoca una respuesta inflamatoria en la mayoría de las personas, la práctica de ejercicio a largo plazo en realidad parece reducir los niveles de citoquinas inflamatorias en sujetos sanos y pacientes con ICC<sup>26</sup>.

No obstante, la evidencia no es fuerte y los resultados en los pacientes con EPOC son particularmente contradictorios<sup>26</sup>.

## **METODOLOGÍA**

### **Objetivo General**

Describir el rol de las EROS/ERNS en la patogénesis de la EPOC y el impacto de los agentes antioxidantes y del ejercicio en la progresión de esta patología.

### **Objetivos Específicos**

- Revisar y seleccionar artículos de divulgación científica relacionados con la problemática de investigación.
- Describir los mecanismos moleculares-celulares implicados en la patogénesis de la EPOC.
- Definir el rol específico de las EROS/ERNS en el desarrollo de la EPOC.
- Describir el estado del arte acerca del uso de agentes antioxidantes en la EPOC.
- Desarrollar los mecanismos moleculares-celulares implicados en la patogénesis de la DM.
- Describir el estado del arte acerca de la ejecución de ejercicio físico en el control del estado proinflamatorio y prooxidante en la EPOC y DM.

### **Metodología de revisión**

Se realizó, en primera instancia, una revisión de la literatura para la obtención de las palabras claves con las que se implementó la búsqueda de los artículos.

- **Estrategia de Búsqueda y Selección de Artículos.**

Las palabras claves propuestas según la revisión realizada, enmarcadas bajo el objetivo de estudio, corresponden a: COPD (Chronic Obstructive Pulmonary Disease), Oxidative Stress, ROS (Reactive Oxygen Species), Chronic Inflammation, Antioxidant Therapy. Exercise, Muscle dysfunction.

Las bases de datos utilizadas correspondieron principalmente a dos: PUBMED y SCIENCE DIRECT, debido a la gran cantidad de artículos científicos de diversos grados de evidencia relacionados con el área de la medicina que en ellas se encuentran.

Las características de los artículos que se revisaron corresponden a revisiones-estudios con un adecuado índice de evidencia, que cumplieron con los criterios de inclusión y exclusión descritos a continuación.

La data de publicación de los artículos seleccionados fue menor o igual a 12 años desde la fecha de inicio de la presente revisión sistemática. (Mayor o igual al año 2005).

#### **Criterios de selección:**

- Revisiones sistemáticas, ensayos clínicos controlados (ECC) o estudios en modelo animal que relacionen el uso de algún(os) agente(s) antioxidante(s) y/o ejercicio en el control de la EPOC, ya sean en sus parámetros inflamatorios, como en el curso de la sintomatología ocasionada por este síndrome.
- Estudios que detallen de manera adecuada la metodología utilizada: Agente(s) antioxidante(s), concentración, dosificación, parámetros de estrés oxidativo evaluados, métodos utilizados en la detección de parámetros oxidativos, etc.
- En el caso de que el artículo corresponda a un ensayo clínico controlado, se realizará la evaluación de la calidad metodológica del estudio mediante la escala PEDro, seleccionando los artículos que cumplan con un grado alto de calidad metodológica. Determinando en 7 puntos el corte.

#### **Criterios de Inclusión:**

- Ensayos clínicos controlados que informen de manera específica el diagnóstico de la EPOC (no otro símil) en los participantes, además de la etapa de la patología según los valores espirométricos estandarizados u otro método validado.

- Estudios en modelo animal, en donde se informe el mecanismo químico o físico por el cual se indujo la EPOC en el modelo. Además de la dosificación y diseño metodológico para determinar y diagnosticar el síndrome en estudio.

#### **Criterios de Exclusión:**

- Ensayo clínico controlado en donde el paciente con EPOC, presente otra patología respiratoria crónica.
- Estudios con mediciones in vitro.
- Ensayo clínico controlado en donde se apliquen más de una intervención farmacológica conocida, excluyendo de este criterio los medicamentos habituales para el control de la EPOC o exacerbación de ésta (inhaladores y fármacos de administración oral) u otras patologías crónicas no respiratorias.

#### **Análisis de datos:**

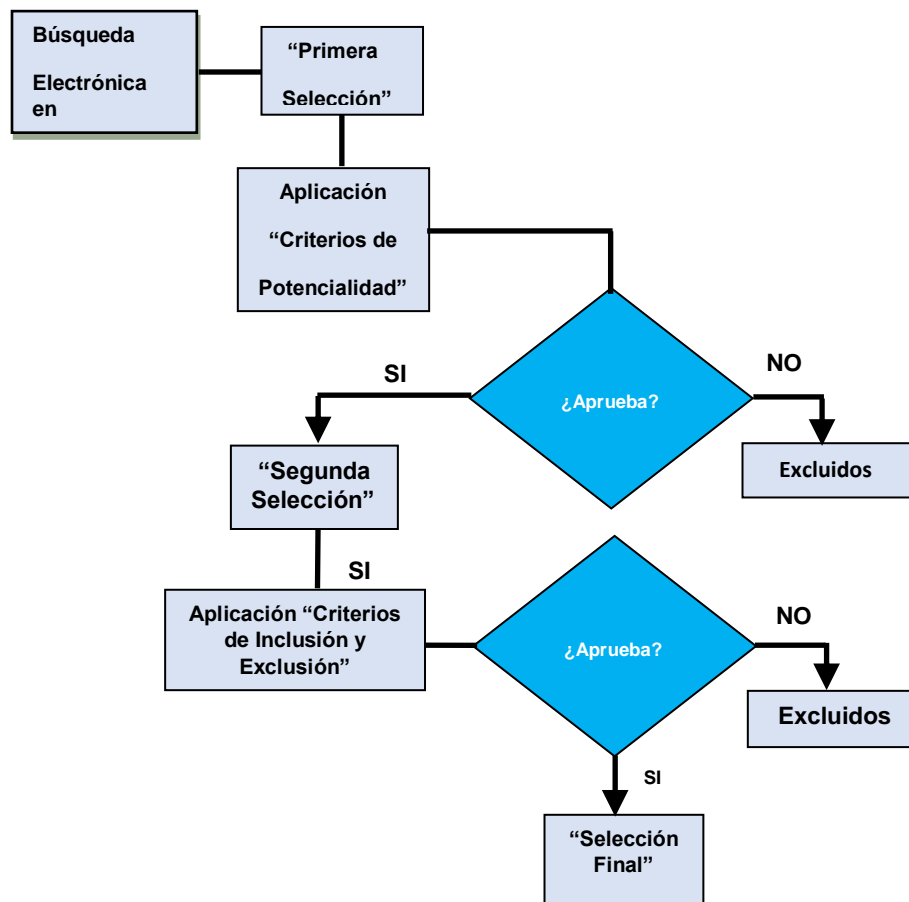
El análisis de los datos obtenidos de la presente revisión sistemática, serán presentados de manera descriptiva.

Los resultados revisados fueron registrados en una hoja previamente elaborada, según la distribución PICOT, en donde se detallarán las siguientes dimensiones:

- Autor principal.
- Fecha.
- País.
- Tamaño de la muestra.
- Intervención (si la hubiere).
- Control.
- Mediciones.

- Resultados.
- Evaluación del tratamiento.
- Conclusiones de los autores.
- Observaciones.

### Flujograma de selección de artículos de revisión



- **Primera selección:** 1921 artículos.
- **Segunda selección:** 15 artículos.
- **Selección final:** 13 artículos.

## RESULTADOS

1º autor (Año) País	Tamaño de muestra (n)	Intervención (Tratamiento)	Control (Tratamiento)	Medición Recolección de datos	Resultados	Evaluación del tratamiento	Conclusiones de autores	Observaciones
MING ZHAN G (2016) CHINA <sup>38</sup> .	Ratas machos SPRAGUE -DAWLEY (N= 38)	<p><b>Grupo 1 (ratas EPOC):</b> Solución fisiológica salina.</p> <p><b>Grupo 2 (EPOC):</b> Curcumina (100 mg/kg).</p> <p><b>Grupo 3 (EPOC):</b> Disolución de 0,1 % Carboximetil-celulosa-Na</p>	Ratas sanas: Solución fisiológica salina.	<p><b>-Células inmunes</b> (neutrófilos y macrófagos).</p> <p><b>-Citoquinas inflamatorias</b> (IL-6, IL-8 y TNF-<math>\alpha</math>).</p> <p><b>-Cambios Histopatológicos.</b></p> <p><b>-Apoptosis alveolar de células epiteliales.</b></p> <p><b>-Expresión proteica</b> de P66Shc y P-P66Shc.</p>	<p>-La concentración de células inmunes, fue significativamente mayor en las ratas con EPOC.</p> <p>-El nivel de citoquinas proinflamatorias fue mayor en las ratas con EPOC.</p> <p>Sin embargo, el Grupo 2 (tratado con curcumina) obtuvo disminuciones significativas de los parámetros mencionados respecto al grupo 1 y 3.</p> <p>-Se determinó la presencia de enfisema y disminución en las unidades alveolares en ratas con EPOC.</p> <p>-Aumento de la tasa de apoptosis de células epiteliales alveolares, en ratas con EPOC, que se vio atenuado en el grupo tratado con curcumina.</p> <p>-Aumento de la expresión</p>	<p>La intervención se llevó a cabo por 30 días.</p> <p>Al finalizar este período se realizaron las mediciones señaladas.</p>	<p>Nuestro estudio ha demostrado que la administración oral de curcumina atenúa la respuesta inflamatoria y la lesión alveolar en las ratas con EPOC, así como la regulación a la baja de la expresión de P66Shc, lo que también contribuye a la disminución de la lesión epitelial alveolar.</p> <p>Estos hallazgos implican el valor potencial de la curcumina en la prevención y tratamiento de la EPOC.</p>	<p>Un muy buen estudio, con una metodología bien ejecutada.</p> <p>Con resultados significativos con relación a la acción de un agente antioxidante en una patología con predominio del estado prooxidante.</p> <p>En conclusión, es un estudio para ser replicado.</p>

					proteica de P66Shc y P-P66Shc, en ratas con EPOC, con disminución significativa en el grupo tratado con curcumina.			
<b>S. SINGH (2016) INDIA<sup>3</sup></b> 9.	Sujetos del norte de INDIA (Hospital de atención terciaria) (N=250)	Colección de muestra: 5 ml de sangre venosa.	<b>Sujetos sanos:</b> 150.  <b>Grupo A:</b> Pacientes EPOC, no fumadores. (N=55).  <b>Grupo B:</b> Pacientes EPOC fumadores. (N=45).	-Ensayo de catalasa.  -Ensayo de SOD (superóxido dismutasa).  -Ensayo GPx (glutación peroxidasa).  -Ensayo de la Glutación reductasa.  -Ensayo de glutación reducido.  -Medición de peroxidación lipídica.	-Dentro de los resultados más relevantes de este estudio, se evidencia una reducción significativa en los niveles de enzimas antioxidantes, así como un aumento en los niveles de peroxidación lipídica en los pacientes con diagnóstico de EPOC en comparación con los pacientes sanos.  Este patrón se mantuvo en los análisis que se obtuvieron entre los distintos estadios de la EPOC. En donde los niveles de enzimas antioxidantes fueron menores y los marcadores de peroxidación lipídica mayores en la medida que aumentaba la gravedad de la enfermedad.	No se detalla.	Los resultados de este estudio refuerzan la evidencia de que el desequilibrio oxidante/antioxidante está asociado con la obstrucción de las vías respiratorias.  Este estudio proporciona pruebas claras de la tendencia oxidante en pacientes con EPOC, que aumenta en paralelo con la gravedad de esta patología.  Se requieren estudios adicionales que analicen los mecanismos fisiopatológicos implicados en la lesión pulmonar relacionados con el desequilibrio oxidante/antioxidante.	Estudio con resultados significativos en los parámetros medidos, que respaldan la evidencia del aumento del estado de estrés oxidativo en la EPOC.  No obstante, al igual que las referencias teóricas se requiere precisar los mecanismos fisiopatológicos relacionadas con esta patología.
<b>AHME D MAHM OUD (2013) EGIPT O<sup>40</sup>.</b>	(N=45) pacientes con diagnóstico de EPOC, con exacerbación aguda,	<b>Grupo 1:</b> 200 mg de N-acetil cisteína (NAC).  <b>Grupo 2:</b> 400 mg de NAC.	Pacientes EPOC con exacerbación aguda, tratados con medicación convencional.	-Pruebas de función pulmonar (Espirometría).  -Pruebas de peroxidación lipídica (MDA).	-Los niveles de IL-8 fueron significativamente menores en el grupo de pacientes EPOC, con exacerbación aguda que	La intervención se llevó a cabo por 10 días.  Al finalizar este período se	Las dosis en concentración alta de NAC demostraron una mejoría clínica en los pacientes EPOC con exacerbación aguda.  Mejorando el estado de estrés oxidativo,	Estudio con resultados significativos respecto a los grupos sometidos a la intervención.

				<p><b>-Gases en sangre arterial (GSA).</b></p> <p><b>-Citoquinas inflamatorias (IL-8).</b></p>	<p>fueron tratados con 1200 mg de NAC.</p> <p>-Los niveles de MDA disminuyeron de forma significativa en los grupos tratados con 600 y 1200 mg de NAC, con relación al grupo no tratado.</p> <p>-Los parámetros espirométricos VEF1, CVF, VEF1/CVF, así como los valores de presión parcial de oxígeno arterial, mostraron mejoras significativas en el grupo tratado con 1200 mg de NAC en comparación a los dos grupos restantes.</p>	<p>realizaron las mediciones señaladas.</p>	<p>respuesta inflamatoria, volúmenes y oxigenación pulmonar.</p>	<p>Se midieron parámetros adecuados para el contexto de objetivo de esta revisión.</p> <p>La única acotación podría ser el "sesgo" de presentar una exacerbación aguda.</p> <p>Sin embargo, todos los grupos estuvieron bajos las mismas condiciones, incluyendo el grupo control.</p>
<p><b>JOSEPH FOOTI TT (2016) LOND RES<sup>41</sup>.</b></p>	<p>Pacientes con diagnóstico de EPOC (Tipo II), con exacerbación aguda por rinovirus. (N=9)</p>	<p>No se realiza intervención.</p>	<p><b>Sujetos sin EPOC.</b></p> <p>No fumadores (N=10) y fumadores (N=9).</p>	<p><b>-Pruebas de función pulmonar</b> (Espirometría).</p> <p><b>-Células inflamatorias.</b></p> <p><b>-Elastasa de neutrófilos.</b></p> <p><b>-Citoquinas inflamatorias.</b> IL-1<math>\beta</math>, GM-CSF, IL-8, TNF-<math>\alpha</math> y MMP-9.</p> <p><b>-Biomarcadores de estrés oxidativo y nitrosativo.</b> 8-hidroxi-2-desoxiguanosina (8-OHdG) y 3-nitrotirosina (3-NT).</p>	<p>-El volumen espiratorio forzado en el primer segundo VEF1, así como la relación VEF1/CVF fue significativamente menor en el grupo de pacientes con diagnóstico de EPOC, con relación a los grupos control.</p> <p>- En los sujetos con EPOC se evidenció un aumento en la concentración de células inflamatorias (neutrófilos) sobre los niveles basales entre los días 9 y 15 de la medición</p>	<p>El estudio tuvo una duración de 56 días divididos de la siguiente forma:</p> <p><b>-1º día:</b> toma de muestras basales.</p> <p><b>-14º al 16º:</b> Inoculación con rinovirus.</p> <p><b>-17º al 42º día:</b> medición de los parámetros en estudio post infección por rinovirus.</p>	<p>En resumen, el estudio ha podido demostrar la presencia y aumento del estado oxidativo en pacientes con diagnóstico de EPOC antes y durante la exacerbación aguda por rinovirus.</p> <p>Lo que está directamente relacionado con la reducción de la actividad de la enzima HDAC2, la cual tiene un importante rol en el control de la expresión genes proinflamatorios y enzimas antioxidantes (SOD), lo que se cree es un mecanismo clave en la resistencia a los corticosteroides en esta patología.</p>	<p>Estudio con diferencias significativas en todos los parámetros evaluados, que reafirma un aumento en el estado oxidativo en los pacientes con EPOC, tanto es su estado basal, como en las exacerbaciones de esta.</p> <p>Propone además una interesante teoría acerca de la resistencia a los corticosteroides e indaga en los mecanismos fisiopatológicos involucrados en este proceso.</p>

				<p><b>-Actividad de la enzima Histonas desacetilasas HDAC2.</b></p>	<p>en pacientes con EPOC.</p> <p>Lo que no sucedió con los niveles de macrófagos en todos los grupos evaluados.</p> <p>-Los niveles de citoquinas inflamatorias (IL-1<math>\beta</math>, CXCL8, IL-8, TNF-<math>\alpha</math> y MMP-9, aumentaron en el grupo de pacientes con EPOC en comparación con los grupos control.</p> <p>-Los niveles de 8-OHdG y 3-NT, fueron más altos en el grupo de pacientes con EPOC en relación con los grupos control.</p> <p>-La actividad de la enzima HDAC2, mostró una disminución significativa en comparación con los grupos control, especialmente entre los días 5 y 21 de la infección viral.</p>			<p>El punto en contra corresponde al reducido tamaño de la muestra.</p>
<p><b>MERC KEN EVI M. (2005) HOLA NDA<sup>42</sup>.</b></p>	<p>(N=22)</p> <p><b>-Grupo 1:</b> Sujetos sanos (N=11).</p> <p><b>-Grupo 2:</b> Sujetos con diagnóstico de EPOC en etapa III y IV según clasificación GOLD (N=11).</p>	<p>Ejercicio físico en dos niveles de intensidad.</p> <p><b>-Máximo</b> (100% del VO2Máx)</p> <p><b>Submáximo</b> (60% del VO2Máx).</p> <p>En el marco de un programa de rehabilitación pulmonar de 8</p>	<p><b>Sujetos sanos</b> (Sin diagnóstico de EPOC).</p>	<p><b>-Niveles de peroxidación lipídica en el plasma sanguíneo y en la orina (MDA).</b></p> <p><b>-Concentración de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en el aire exhalado.</b></p> <p><b>-Daño al ADN</b> (Ensayo cometa).</p>	<p>-Se evidencia un aumento en la lipoperoxidación en pacientes EPOC en comparación con el grupo control. Este aumento se ve atenuado después del entrenamiento realizado en el programa de rehabilitación.</p>	<p>Se realizaron mediciones en estado basal (Reposo).</p> <p>Posterior a las 8 semanas de rehabilitación pulmonar en el grupo de pacientes con EPOC, se realizaron</p>	<p>Se evidencia la predominancia del estado prooxidativo en pacientes EPOC dada la concentración aumentada de biomarcadores de estrés en comparación con el grupo de pacientes sanos de características etarias y antropométricas similares.</p> <p>Este estudio concluye que un programa de rehabilitación</p>	<p>Estudio con una buena metodología y que se correlaciona completamente con los objetivos de esta revisión, específicamente con la incorporación del ejercicio como agente antioxidante no químico, obteniéndose buenos</p>

		semanas de duración.		<p><b>-Capacidad pulmonar</b> (Espirometría).</p> <p><b>-Capacidad de ejercicio</b> (Test incremental).</p> <p><b>-Niveles de actividad física</b> (Acelerómetro).</p> <p><b>-Concentración plasmática de lactato.</b></p>	<p>-Las concentraciones de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en el aire exhalado, fueron elevadas en todos los grupos, sobre todo después de la realización del ejercicio físico maximal.</p> <p>No obstante, este patrón se vio modificado a la baja gracias al programa de rehabilitación.</p> <p>-El daño al ADN, se vio incrementado en pacientes EPOC, pero al igual que los anteriores marcadores de daño oxidativo, este se vio atenuado posterior al programa de rehabilitación.</p> <p>-Respecto a los volúmenes pulmonares, especialmente el VEF1, CVF y la relación VEF1/CVF, presentaron variaciones significativas arrojando una elevación de los parámetros mencionados.</p>	<p>as mediciones inmediatas después de la realización del ejercicio físico (máximo y submáximo) y a las 4 horas de la finalización de este.</p>	<p>pulmonar se asocia a una disminución en el estado oxidativo en pacientes con EPOC especialmente posterior a la realización de ejercicio submáximo.</p> <p>Esto podría explicarse a la optimización del metabolismo oxidativo, como también a un aumento de la capacidad de los sistemas antioxidantes endógenos, por lo que el ejercicio tendría un efecto directo en el aumento de la cinética antioxidativa.</p>	<p>resultados, respecto a la dosificación del ejercicio y sus efectos beneficiosos a nivel celular.</p>
<b>R.W. dal negro (2007) Italia<sup>43</sup>.</b>	(N=20) <b>Grupo 1:</b> 10 pacientes con EPOC leve a moderada.  <b>Grupo 2:</b> 10 pacientes con EPOC	<b>Grupo 1:</b> 600mg/día de Erdosteína.	<b>Grupo 2:</b> Placebo.	<p><b>Biomarcadores de estrés oxidativo:</b></p> <p>-EROS (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>).</p> <p>-IL-6.</p> <p>-IL-8</p> <p>-TNF-<math>\alpha</math>.</p> <p>-8-isoprostano.</p> <p>-e-NO: óxido nítrico endotelial.</p>	<p>En este estudio, se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas, con relación a la disminución de las EROS a partir del 4º día y se mantuvo hasta el 10º, en el grupo de pacientes</p>	<b>10 días de tratamiento</b> , con mediciones basales y al 4º, 7º y 10º día.	<p>En conclusión, la Erdosteína demostró ser capaz de incidir significativamente sobre las EROS y algunos indicadores de inflamación y daño celular en fumadores con EPOC leve a moderado.</p> <p>Confirmando además su utilización sobre la actividad antioxidante</p>	<p>ECC con un alto nivel de evidencia y resultados significativos en el control de la actividad oxidante en la EPOC.</p>

	leve a moderada.				tratado con Erdosteína.  Así como también ocurrió para la citoquina proinflamatoria IL-8.		previamente observada en varios experimentos con animales.  Se necesitan más estudios controlados a largo plazo para implementar la presente evidencia relativa a los efectos antiinflamatorios de la Erdosteína, para evaluar su relevancia clínica en el tratamiento regular de la EPOC.	
<b>R.A. PINHO (2007) Brasil<sup>4</sup></b>	(N=15)  <b>Grupo 1:</b> 8 pacientes con EPOC moderada-severa, entrenados.  <b>Grupo 2:</b> 7 pacientes con EPOC moderada-severa, sedentarios.	Ejercicio en cicloergómetro a una intensidad del 60% del VO <sub>2</sub> Máx de la capacidad de cada paciente.	No hubo grupo control.	<b>-Capacidad antioxidante total.</b>  <b>-Peroxidación lipídica.</b>  <b>-Actividad de enzima Xantina oxidasa (XO).</b>	La capacidad antioxidante de ambos grupos medida antes y después del programa de RP se encontró disminuida y no tuvo cambios significativos después del período de 8 semanas.  Respecto a los biomarcadores de oxidación lipídica tampoco registraron cambios significativos.  Sin embargo, los niveles de xantina oxidasa se vieron reducidos de manera significativa, lo que se traduce en un control directo en la formación de EROS, específicamente sobre el O <sub>2</sub> <sup>-</sup> .	Programa de Rehabilitación pulmonar con una frecuencia de 3 veces a la semana por un total de 8 semanas	En conclusión, el presente estudio sugiere que los pacientes con EPOC se caracterizan por el aumento de los marcadores de estrés oxidativo sistémico y pulmonar, tanto en reposo como inducido por pruebas de ejercicio cardiopulmonar.  Por otra parte, este estudio mostró por primera vez que la rehabilitación pulmonar supervisada se asoció con la reducción del daño oxidativo inducido por el ejercicio sistémico.	Es un estudio con un buen nivel de calidad metodológica, que involucra el ejercicio con la actividad antioxidante y antiinflamatoria.  Este estudio, vuelve a promover al ejercicio de intensidad moderada (60% VO <sub>2</sub> Máx) como la intensidad ideal para la realización de ejercicio en el paciente con diagnóstico de la EPOC.
<b>XIAO-JU LIU (2015) CHINA<sup>45</sup></b>	(N=64)  <b>Grupo 1:</b> 34 pacientes con EPOC moderada y grave.	Grupo A: Dexametasona (0,5 µmol/l).  Grupo B: Resveratrol (12,5 µmol/l).	<b>Grupo 2:</b> 30 sujetos sanos.	<b>-Niveles de TNF-α.</b>  <b>-MMP-9.</b>  <b>-NF-κβ.</b>	Las concentraciones de TNF-α, MMP-9 y NF-κβ fueron significativamente mayores en la medición basal en el grupo de	48 horas.	El presente estudio demostró que la translocación de NF-κβ desde el citoplasma al núcleo, y la secreción de TNF-α y MMP-9 se incrementó en los linfocitos de pacientes con EPOC	Un muy buen estudio clínico con una excelente calidad metodológica, que nos da directrices sobre el uso de algunos

		Grupo C: Genisteína (25 µmol/l).			<p>pacientes con EPOC en contraposición del grupo de sujetos sanos.</p> <p>Además, se produjo una correlación positiva y estadísticamente significativa entre el porcentaje de NF-κβ y los niveles de TNF-α y MMP-9.</p> <p>-NF-κβ, TNF-α y MMP-9, tuvieron disminuciones significativas en sus concentraciones en los pacientes EPOC tratados con Resveratrol y Genisteína en la dosificación determinada.</p> <p>-Cabe destacar, que, a concentraciones menores o mayores de la dosis determinada en el estudio, los niveles de estos marcadores resultaron ser siempre menores.</p>		<p>en comparación con controles sanos.</p> <p>Adicionalmente, resveratrol y genisteína inhibieron la translocación de NF-κβ, y disminuyeron los niveles de concentración de TNF-α y MMP-9.</p> <p>Además, las acciones inhibitorias del resveratrol y genisteína en relación con TNF-α fueron mayores que los efectos sobre MMP-9.</p> <p>Los resultados del presente estudio sugieren que el resveratrol y la genisteína pueden ser potenciales candidatos a fármacos para el tratamiento de la EPOC.</p>	<p>antioxidantes en el control de la inflamación crónica, su concentración y posible dosificación</p>
--	--	--	--	--	--	--	--	---

<b>SOMAIEK MARTIN (2018) (IRÁN)<sup>46</sup>.</b>	N: 90 Pacientes con diagnóstico de EPOC.  <b>Grupo control:</b> 45 pacientes.  <b>Grupo 2:</b> 45 pacientes.	<b>Grupo 2:</b> 3,2 g de ácido linoleico.	<b>Grupo control:</b> : 3,2 g de placebo.	<b>-Marcador de peroxidación lipídica:</b> MDA.  - <b>Metaloproteinasas de matriz:</b> MMP 2 MMP 9.	-Al inicio del tratamiento no se evidencian diferencias significativas en los niveles de MDA (medición basal) entre ambos grupos.  -Post intervención, se produce una disminución significativa en	La duración de la intervención fue de 6 semanas, en donde se realizó la administración de placebo en el caso del grupo control y ácido linoleico en el grupo 2.	Los niveles séricos de MDA y MMP 9 disminuyeron significativamente posterior a 6 semanas de tratamiento con ácido linoleico.  Estos hallazgos indicaron que la administración de suplementaria	Ensayo clínico randomizado, que cumple con un buen nivel de evidencia, PEDRO mayor a 7 puntos.  Con resultados significativos que avalan la
---	---	---	--	--	--	---	--	---

					los niveles de MDA y MMP2 en el grupo tratado con 3,2 g de ácido linoleico.	Las mediciones se realizaron el día 1 y al finalizar la sexta semana de tratamiento	de este compuesto podría ser útil para el tratamiento de la EPOC.  El mecanismo de acción del ácido linoleico radica en el aporte inhibitorio del estrés oxidativo y control de los niveles séricos de MMP 9. Esta última proteasa se encuentra en abundancia en tejidos con alteraciones inflamatorias, como es el caso de la EPOC.	acción de un agente antioxidante (ácido linoleico) en el control del daño oxidativo ocasionado por los agentes prooxidantes en la EPOC:
<b>JIMBO ZHANG (2017) (CHINA)</b> <sup>47</sup> .	N: 50 ratones, con EPOC inducido.	<b>Grupo 3:</b> Ratones con EPOC, tratados con una dosis baja de Estemonina (N:10).  <b>Grupo 4:</b> Ratones con EPOC, tratados con una dosis media de Estemonina (N:10).  <b>Grupo 5:</b> Ratones EPOC, tratados con una dosis alta de Estemonina (N:10).	<b>Grupo 1:</b> Ratones sanos (N:10).  <b>Grupo 2:</b> Ratones con EPOC (N:10).	<b>-Citoquinas proinflamatorias:</b>  -IL 6. -TNF-α.  <b>-Enzimas Antioxidantes:</b>  SOD.  <b>-Cambios histopatológicos en biopsia del tejido pulmonar.</b>	-Se determina una disminución significativa en la lesión del parénquima pulmonar en los grupos de ratones tratados con Estemonina, obteniéndose los mejores resultados en el grupo tratado con una dosis alta de este metabolito antioxidante.  -Los niveles de citoquinas proinflamatorias asociadas a estrés oxidativo disminuyeron de manera significativa en los grupos de ratones tratados con Estemonina, obteniéndose una relación dosis-dependencia, a mayor concentración del metabolito antioxidante, mejor efecto.	No se detalla.	Los resultados obtenidos demuestran en primer lugar el potencial antioxidante de la STEMONA, específicamente un metabolito derivado de esta planta la Estemonina.  En este contexto, la Estemonina, en una relación dosis dependiente, demostró tener efectos beneficiosos en el control de la EPOC, en el grupo de ratones que fue tratado con este antioxidante.  En el grupo que fue tratado con la dosis más alta de Estemonina, se encontró mejores resultados con relación a la disminución de	Estudio con una buena calidad metodológica, ensayo randomizado con un buen nivel de evidencia, que apoya y arroja resultados positivos de la intervención antioxidante en la EPOC.

					-La Estemonina, aumentó significativamente la concentración de SOD, en una relación dosis dependiente.		algunas citoquinas proinflamatorias, atenuación de los cambios histopatológicos del parénquima pulmonar y regulación positiva de la enzima SOD.	
<b>XIAO-LI WANG (2017) (CHNA)<sup>48</sup>.</b>	N: 30 ratones.	<b>Grupo 3:</b> ratones con EPOC tratados con Resveratrol (50 mg/kg de peso).	<b>Grupo 1:</b> ratones sanos,  <b>Grupo 2:</b> ratones con EPOC.	<b>Citoquinas proinflamatorias:</b> -IL 6. -IL 8.  <b>Biomarcador de estrés oxidativo:</b> -MDA.  <b>Actividad Antioxidante:</b> -SOD.  <b>Leucocitos:</b> -Neutrófilos.  <b>Factores de transcripción:</b>  -SIRT 1. -PGC-1.	-Se evidencia una disminución significativa en los niveles de neutrófilos en el grupo de ratones con EPOC tratados con resveratrol.  -Se registra una disminución significativa de las citoquinas proinflamatorias IL 6 e IL 8 en el grupo de ratones con EPOC, tratados con resveratrol.  -Disminución en el biomarcador medido de estrés oxidativo MDA, en el grupo de ratones con EPOC tratados con resveratrol.  -Aumento en la concentración de SOD en el grupo de ratones con EPOC tratados con resveratrol.  -Aumento de los factores de transcripción SIRT 1 y PGC 1, en el grupo de ratones con EPOC tratados con resveratrol.	<b>30 días,</b> divididos de la siguiente manera:  -7 días de aclimatación.  -23 días de tratamiento.  Al finalizar este periodo se realizaron las mediciones señaladas anteriormente,	Este estudio sugiere que el resveratrol es eficaz para prevenir y tratar la respuesta inflamatoria pulmonar y sistémica, dada por el desbalance oxidativo en la EPOC.	Estudio randomizado, con buen nivel de evidencia y calidad metodológica.
<b>BARROSO MARINA VALENTE (2017) (BRASIL)<sup>49</sup>.</b>	N: 50 ratones.	<b>Grupo 3:</b> Ratones con EPOC, tratados con hierba mate (500 mg/kg de peso/día) (N:10).	<b>Grupo 1:</b> ratones sanos (N:50).	<b>Metaloproteinasas:</b> -MMP 2. -MMP 12.  <b>Leucocitos:</b>	-El propóleo como agente antioxidante demostró efectos beneficiosos en	El estudio se desarrolló por un período de 60 días.	Todos los resultados de este estudio apoyan el efecto terapéutico del propóleo, en la	ECC con un alto nivel de evidencia y resultados significativos en el control

		<p><b>Grupo 4:</b> ratones con EPOC tratados con compuestos fenólicos (200 mg/kg de peso/día) (N:10).</p> <p><b>Grupo 5:</b> ratones con EPOC, tratados con propóleo (200 mg/kg de peso/día) (N:10).</p>	<p><b>Grupo 2:</b> Ratones con EPOC (N:10).</p>	<p>-Macrófagos.</p> <p><b>Citoquinas proinflamatorias:</b> -IL-10.</p> <p><b>Factores de crecimiento:</b> -TGF. -IGF.</p>	<p>la reparación del daño pulmonar.</p> <p>-El grupo de ratones con EPOC tratados con propóleo, demostró un aumento significativo de MMP 2.</p> <p>- El grupo de ratones con EPOC tratados con propóleo, demostró un aumento significativo en la cantidad de fibras elásticas pulmonares.</p>	<p>Posterior a este período, se realizaron las mediciones señaladas.</p>	<p>atenuación del enfisema pulmonar propio de los pacientes con EPOC y relacionado directamente con la exposición al humo del cigarrillo y/o contaminantes ambientales particulados.</p> <p>El mecanismo de acción propuesto para la estimulación en la atenuación del enfisema pulmonar radica en el cambio de activación de macrófagos alternativos con la consiguiente promoción de un microambiente antiinflamatorio, con participación de la IL 10 y la regulación a la baja de IGF 1, lo que desencadena una cascada de reparación del tabicado alveolar y de las fibras elásticas de los pulmones.</p>	<p>de la actividad oxidante en la EPOC.</p>
<p><b>CHUNLEI Li (2017) (CHINA)<sup>50</sup>.</b></p>	<p><b>N:</b> 40 ratones.</p>	<p><b>Grupo 3:</b> ratones con EPOC, tratados con PD 98059 (antioxidante) (1,75 mg/kg de peso, 3 veces al día) (N:8).</p> <p><b>Grupo 4:</b> ratones con EPOC, tratados con RLD (antioxidante) (3,65 mg/ kg de peso) (N:8).</p> <p><b>Grupo 5:</b> ratones con EPOC, tratados con</p>	<p><b>Grupo 1:</b> control, tratados con solución salina (N:8).</p> <p><b>Grupo 2:</b> ratones con EPOC (N:8).</p>	<p><b>Citoquinas proinflamatorias:</b> -IL-6 -IL-8 -TNF-<math>\alpha</math>.</p> <p><b>Factores de crecimiento:</b> -TGF-B</p> <p><b>Leucocitos:</b> -Neutrófilos. -Linfocitos. -Fagocitos.</p> <p><b>Factores de transcripción:</b> -NRF2. -P-ERK.</p>	<p>-Se evidencia un aumento de leucocitos y factores proinflamatorios en el lavado bronco alveolar de los ratones con EPOC, al inicio del estudio.</p> <p>-Se produce una disminución significativa de leucocitos y factores proinflamatorios en el lavado bronco alveolar de los ratones con EPOC,</p>	<p>No informa.</p>	<p>Los antioxidantes y corticoides evaluados en este estudio, demostraron un efecto beneficioso en el estado oxidativo de los ratones con EPOC.</p> <p>Los hallazgos indican que RLD puede tener un rol potencial en la supresión de las vías de señalización ERK/NRF 2, implicadas</p>	<p>Un muy buen estudio clínico con una excelente calidad metodológica, que nos da directrices sobre el uso de algunos antioxidantes en el control de la inflamación crónica, su concentración y posible dosificación.</p>

		DEXAMETASON A (0,81 mg/kg de peso, diluido en 3 ml) (N:8).		<p><b>Actividad antioxidante:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-GSH.</li> <li>-GSSG.</li> <li>-Relación GSH/GSSG.</li> </ul> <p><b>Biomarcadores de estrés oxidativo:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-8 OHDG.</li> <li>-4-HNE.</li> </ul>	<p>tratados con PD 98059, RLD y dexametasona.</p> <p>-Se produce una disminución significativa en la magnitud de enfisema pulmonar en los ratones con EPOC, tratados con PD 98059 y dexametasona.</p> <p>-Se evidencia una disminución significativa de los factores de transcripción NRF2 y P-ERK en los ratones con EPOC tratados con PD 98059, RLD y dexametasona.</p> <p>-Se registra un aumento en la concentración de GSH en los ratones con EPOC, tratados con PD 98059, RLD y dexametasona.</p> <p>-Se demuestra un aumento significativo en la relación GSH/GSSG en los ratones con EPOC, tratados con PD 98059, RLD y dexametasona.</p> <p>-Se evidencia una disminución significativa en los biomarcadores de estrés oxidativo (8-OhDG y 4-HNE) en los ratones con EPOC tratados con PD 98059, RLD y dexametasona.</p>	<p>directamente en el daño pulmonar estimulado por el estrés oxidante y la inflamación crónica.</p>	
--	--	--	--	---	---	---	--

## **DISCUSIÓN**

La EPOC es un trastorno inflamatorio crónico que se caracteriza por la predominancia de un estado prooxidante, en el cual existen una gran cantidad de agentes oxidativos, entre ellos los RL y las EROS. Estos son aportados en mayor proporción por la contaminación exógena, siendo la principal fuente de esta el humo del cigarrillo<sup>7</sup>.

No obstante, existe también la contribución celular de la barrera inmune, en donde los linfocitos, neutrófilos y macrófagos generan una concentración de RL y EROS que potencian el estado prooxidante<sup>2</sup>.

Esto ha sido avalado por muchos estudios, entre ellos los mencionados en esta revisión, en donde se ha podido pesquisar una gran variedad de agentes oxidativos en diversas mediciones realizadas en los pacientes con la EPOC, ya sea en las concentraciones de aire espirado, esputo, lavado broncoalveolar y biopsias.

Cabe destacar que las mediciones se han enfocado principalmente en los marcadores de daño oxidativo causado por las EROS, dado que estos, poseen vidas medias cortas, lo que dificulta su medición directa.

Estos marcadores de daño oxidativo corresponden a: alteración de membranas biológicas (fosfolípidos y ácidos grasos poliinsaturados), proteínas y daño al ADN, entre las más relevantes<sup>6,38,39,40,41,42,43,44,45,46,47,48,49,50</sup>.

Las mediciones también se han centrado en los mediadores proinflamatorios tales como las interleuquinas (IL-1,6,8), factores de transcripción TNF- $\alpha$  y NF- $\kappa\beta$  y factores de crecimiento como el TGF, entre otros<sup>38,39</sup>.

En todos los estudios revisados, se repiten patrones claros acerca de la predominancia de estos marcadores proinflamatorios en la EPOC, independiente de la severidad de esta en comparación con sujetos sanos.

Sin embargo, es importante señalar que todos los ensayos clínicos encontrados incorporan pacientes que se encuentran en una etapa moderada y/o severa de la EPOC según la clasificación GOLD<sup>38,39,40,41,42</sup>.

Siguiendo el patrón de las citoquinas inflamatorias, también se ha encontrado un aumento de los niveles de biomarcadores de daño oxidativo en los pacientes con la EPOC, lo que además de ser un dato cuantitativo, representa la respuesta a muchas de las características y lesiones que acompañan a esta patología<sup>6,40,43</sup>.

Un ejemplo clásico corresponde a la alteración del tabicado alveolar (enfisema) en donde, las EROS participan de forma directa en la inactivación de enzimas antiproteasas y la estimulación de factores de crecimiento que alteran la cantidad y calidad del tejido elástico del pulmón, afectado tanto su capacidad de expansión como a la de incorporar oxígeno<sup>8</sup>.

Ha sido de mucha utilidad, definir de manera específica los mediadores y sus posibles mecanismos de acción en la EPOC, ya que debido a esto se podrían establecer posibles nuevos tratamientos en el control de esta patología. Dentro de esta categoría, encontramos la acción beneficiosa de algunos agentes antioxidantes que según los estudios revisados registraron cambios estadísticamente significativos en el patrón oxidante de esta patología.

Los agentes antioxidantes que arrojaron mejores resultados corresponden a; curcumina, resveratrol, propóleo, NAC, erdosteína, estemonina y ácido linoleico, entre los más relevantes<sup>38,40,43,45,47,48,49</sup>.

Las rutas por las cuales los agentes antioxidantes inducen mejorías en el estado proinflamatorio y prooxidante en la EPOC, así como el(los) mecanismo(s) involucrado(s) en la patogénesis de esta enfermedad aún no se conocen del todo<sup>39</sup>. No obstante, se presume que la disminución en la proporción de citoquinas proinflamatorias, la secreción de factores quimiotácticos de amplificación de la respuesta inflamatoria, sumado al control de la activación inmune tendrían un rol preponderante en los beneficios descritos para los agentes antioxidantes<sup>39</sup>.

Cabe destacar que, los tratamientos utilizados en la actualidad están enfocados en el control de la sintomatología y tienen escaso efecto en la progresión de la EPOC<sup>8</sup>. Sin embargo, se han utilizado como terapia complementaria la administración de algunos agentes antioxidantes como parte del tratamiento en las

exacerbaciones de la EPOC, dadas por infecciones respiratorias agudas de origen viral o bacteriano<sup>40</sup>.

Es el caso del antioxidante NAC. Los resultados obtenidos demuestran que este agente incide de manera positiva en el control del estado prooxidante, disminuyendo la concentración de citoquinas proinflamatorias y atenuando el consiguiente daño a biomoléculas dianas, en una relación dosis dependiente<sup>40</sup>.

También se han establecido otras alternativas como la RP, que ha demostrado tener efectos beneficiosos, tanto en la mejora de la capacidad física, detención del daño muscular (Disfunción Muscular) y aumento en la calidad de vida y funcionalidad de los pacientes afectados. No obstante, no se ha logrado comprobar su mecanismo específico de acción antioxidante o antiinflamatoria, a pesar de todos los cambios a nivel de la densidad mitocondrial y enzimática que el ejercicio proporciona<sup>26</sup>.

En el contexto del objetivo de esta revisión, la investigación se llevó a cabo sobre la base de este trastorno inflamatorio y el efecto de los agentes antioxidantes en esta patología, partiendo de la premisa de que, además de haber un estado prooxidativo, también se describe una alteración del balance antioxidante, en donde las EROS tienen efectos sobre la inactivación directa e indirecta de los componentes de la barrera antioxidante.

Los estudios que han experimentado sobre el efecto de los agentes antioxidantes, si bien han arrojado resultados favorables en torno al control sobre algunas citoquinas proinflamatorias, no han sido concluyentes en la extrapolación de su utilidad sobre la compleja red de interacción involucrada en la EPOC<sup>38,40,43,45,47,48,49</sup>.

Esto puede explicarse, como ya se ha mencionado, por la gran cantidad de factores: celulares, enzimáticos, genéticos y oxidativos, y sus vías de interacción, que se presentan en esta patología.

Otro punto importante de mencionar corresponde a las consecuencias sistémicas derivadas de la inflamación crónica. Entre las más relevantes podemos

mencionar a la DM, debido a que causa un gran impacto en la calidad de vida del paciente, limitando tanto su capacidad física como su autovalencia en la realización de actividades cotidianas. Es por esto que la investigación acerca de la rehabilitación muscular y su efecto en la DM ha concitado interés<sup>26</sup>.

Se ha descrito que la DM muscular está dada por una alteración en el catabolismo proteico, como también la incidencia de los factores proinflamatorios en el metabolismo y señalización muscular. Por tanto, parece adecuado determinar qué tipo de ejercicio y qué dosificación es la más adecuada para el tratamiento de estos pacientes<sup>26</sup>.

También se ha mencionado el posible rol antiinflamatorio que el ejercicio tendría en la EPOC<sup>6,42</sup>. Al respecto, la evidencia señala que efectivamente el ejercicio modula cambios significativos en el control del catabolismo proteico e inhibición sobre algunas citoquinas implicadas en la inflamación crónica. Sin embargo, es muy importante mencionar que en base a la evidencia encontrada el tipo de ejercicio más adecuado correspondería al de tipo aeróbico (resistencia), con una intensidad graduada en el 60% del VO<sub>2</sub> Máx (consumo máximo de O<sub>2</sub>)<sup>26</sup>.

No se puede dejar de mencionar también, que esta referencia se sustenta en que el ejercicio agudo y aeróbico aporta posterior a su realización una concentración no despreciable de RL y EROS, por lo que una intensidad mayor a la mencionada generaría un aumento del estado oxidativo e inflamatorio en los pacientes con la EPOC. No obstante, la mejor evidencia para las mejorías encontradas posterior a la finalización de un programa de entrenamiento en pacientes con la EPOC (RP), se sustenta tanto en el rendimiento en pruebas físicas, como la del test de marcha de 6 minutos y en cuestionarios de calidad de vida relacionada con salud (CRQ)<sup>42</sup>.

Por tanto, existe una clara necesidad de mayor investigación sobre la incidencia del ejercicio y el uso de agentes antioxidantes en la EPOC, para poder establecerlos como una alternativa eficaz en el control inflamatorio y oxidativo de la EPOC.

## CONCLUSIONES

Con relación a los resultados obtenidos de la revisión sistemática realizada, se puede concluir lo siguiente:

- La EPOC es una enfermedad crónica progresiva, a partir de la cual se produce una inflamación a nivel pulmonar y sistémico.
- La EPOC, además, está relacionada con el desbalance Redox entre los agentes oxidantes y antioxidantes.
- Aún no se conoce con exactitud los mecanismos fisiopatológicos involucrados en la patogénesis y progresión de la EPOC. No obstante, las teorías de mayor peso teórico corresponden a:
  - a) Aumento del estado inflamatorio.
  - b) Desbalance oxidativo.
  - c) Desbalance del sistema proteasas/antiproteasas.
  - d) Apoptosis.
- La DM es una consecuencia directa que está dada por el aumento del catabolismo proteico e inflamación sistémica de la EPOC.
- Los pacientes con EPOC presentan alteración del estado inflamatorio, con aumento en marcadores de citoquinas proinflamatorias, factores de transcripción-crecimiento y biomarcadores de estrés oxidativo.
- Entre los marcadores más relevantes de citoquinas proinflamatorias presentes en la EPOC se encuentran: IL1, IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$  y NF- $\kappa\beta$ .
- Los métodos de detección de estrés oxidativo más utilizados y que poseen una mayor eficacia (costo/beneficio para el paciente) corresponden a medición del CAE y análisis sanguíneo.
- Los principales EROS y ERNS que participan en la EPOC son:  $O_2^{\cdot-}$ ,  $OH^{\cdot}$ ,  $H_2O_2$  y  $ONOO^{\cdot-}$ .
- Se ha comprobado que algunos agentes antioxidantes exógenos inciden de forma positiva en el control de la inflamación crónica y estado prooxidativo de la EPOC.

- Los agentes antioxidantes que mejores resultados han arrojado en el control de la inflamación crónica de la EPOC corresponden a: Curcumina, Resveratrol, Erdosteína y NAC.
- Los pacientes con EPOC que se someten a un programa de rehabilitación pulmonar han obtenido mejoras en el control del estrés oxidativo. No obstante, estas mejoras aún carecen de un gran nivel de evidencia.
- Se requiere llevar a cabo una mayor cantidad de estudios que presenten mayor evidencia, con el fin de determinar el efecto de los agentes antioxidantes y ejercicio en el curso de la inflamación crónica y estrés oxidante en la EPOC, para así proponerlos como tratamientos efectivos en los pacientes que la padecen.

## **Bibliografía**

1. Murray C. J., López A.D. (1997). Alternative projections of mortality and disability by cause 1990-2020. *Global Burden of Disease Study Lancet*, 349 (9064), 1498-1504.
2. Fisher M.B., Voynow J.A. (2015). COPD: balancing oxidants and antioxidants. *International Journal of COPD*, (10), 261-276.
3. Calverley P.M. Anderson J.A. et al. (2007). Salmeterol and fluticasone propionate and survival in chronic obstructive pulmonary disease. *New England Journal of Medicine*, 356(8), 775-789.
4. Arts I.C. Hollman P.C. (2005). Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies. *American Journal of Clinical nutrition*, 81(1), 317-325.
5. Tabak C., Arts I.C. et al. (2001). Chronic obstructive pulmonary disease and intake of catechins, flavanols and flavones: The Morgen Study. *American Journal of Respiratory Critical Care Medicine*, 165(1), 61-64.
6. Liu X. J., Bao H.R., (2016). Effects of resveratrol and genistein on nuclear factor- $\kappa\beta$ , tumor necrosis factor- $\alpha$  and matrix metalloproteinase-9 in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Molecular Medicine Reports* (13) ,4266-4272.
7. Flores G., Dastamalchi K., et al. (2012). Edible fruits as potential therapeutics for COPD treatment. *Food Chemistry*, 134(3): 1256-1262.
8. Breda C., Roos M. (2008). Chronic obstructive Pulmonary Disease. *International Encyclopedia of Public Health*. (2), 28-35.
9. Wolfgang D., Karl O., (2014), Oxidative stress and free radicals in COPD implications and relevance for treatment. *American Journal of Respiratory Critical Care Medicine*. (9), 1207-1224.
10. Dietrich M., Block G., et al. (2003). Smoking and exposure to environmental tobacco smoke decrease some plasma antioxidants and increment gamma-tocopherol in vivo after adjustment for dietary antioxidant intake. *Am J Clinical Nutritionals*. 77(1), 160-166.

11. Kinmulla V.L., Crapo J.D., (2003). Superoxide dismutases in the lung human lung disease. *Am Journal Respiratory Critical Care Medicine*. (87), 408-415.
12. Rahman I., Van S., et al. (2002). 4-Hydroxy-2-nonenal, a specific lipid peroxidation product, is elevated in the lungs of patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am Journal Respiratory Critical Care Medicine*.166(4), 490-494.
13. Inonu H., Doruk S., et al. (2012). Oxidative stress levels in exhaled breath condensate associated with COPD and smoking. *Respiratory Care*. 57(3):413–419.
14. Drost E.M., Swarski K.M., et al. (2005). Oxidative stress and airway inflammation in severe exacerbations of COPD. *Thorax*. 60(4): 293–300.
15. Van Antwerpen V.L., Theron A.J., et al. (1995). Vitamin E, pulmonary functions, and phagocyte-mediated oxidative stress in smokers and nonsmokers. *Free Radical Biology Medicine*. 18(5):935–941.
16. MacNee W., Wiggs B., et al. (1989). The effect of cigarette smoking on neutrophil kinetics in human lungs. *N England Journal Med*. 321(14):924–928.
17. Elby C., Drost E., et al. (1985) In vivo neutrophil sequestration within lungs of humans is determined by in vitro “filterability”. *J Appl Physiology*. 1991;71(5):1996–2003.
18. Corradi M., Montuschi P., et al. (2001) Increased nitrosothiols in exhaled breath condensate in inflammatory airway diseases. *Am Journal Respiratory Critical Care Medicine*.163(4):854–858.
19. Corradi M., Majori M., et al. (1999) Increased exhaled nitric oxide in patients with stable chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax*.54(7):572–575.
20. Talukder M.A., Johnson W.M., et al. (2011) Chronic cigarette smoking causes hypertension, increased oxidative stress, impaired NO bioavailability, endothelial dysfunction, and cardiac remodeling in mice. *Am Journal Physiology Heart Circ Physiol*, 300(1):H388–H396.

21. Mizuno S., Bogaard H.J., et al. (2012) MicroRNA-199a-5p is associated with hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  expression in lungs from patients with COPD, *Chest*.142(3):663–672.
22. Bialas A.J., Sitarek P., et al. (2016). The role of mitochondria and oxidative/antioxidative imbalance in pathobiology of chronic obstructive pulmonary disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. (2016). 1-5.
23. Kirkham P.A, Barnes P.J., (2013) “Oxidative stress in COPD,” *Chest*, vol. 144 (1): 266–273.
24. Rajendrasozhan S., Yang S.R., et al. (2008) “Deacetylases and NF- $\kappa$ B in redox regulation of cigarette smoke-induced lung inflammation: epigenetics in pathogenesis of COPD,” *Antioxidants & Redox Signaling*, vol. 10, (4): 799–811.
25. Sengupta N., Seto E. (2004) “Regulation of histone deacetylase activities,” *Journal of Cellular Biochemistry*, vol. 93, (1): 57–67.
26. Van der V., Janssen T., (2010). The potential anti-inflammatory effect of exercise in chronic obstructive pulmonary disease. *Journal Respiration*, (79): 170-179.
27. Wuyam B, Payen J.F., et al. (1992). Metabolism and aerobic capacity of skeletal muscle in chronic respiratory failure related to chronic obstructive pulmonary disease. *Eur. Respiratory Journal*, (5):157–162.
28. Yende S., Waterer G.W., et al. (2006). Inflammatory markers are associated with ventilator limitation and muscle dysfunction in obstructive lung disease in well-functioning elderly subjects. *Thorax*, (61):10–16.
29. Di Francia M, Barbier D., et al. (1994). Tumor necrosis factor-alpha levels and weight loss in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Medicine*, (150):1453–1455.
30. Pitsiou G, Kyriazis G, et. Al. (2002). Tumor necrosis factor-alpha serum levels, weight loss and tissue oxygenation in chronic obstructive pulmonary disease. *Respiratory Medicine*, (96):594–598.

31. Eid A.A., Nixon L.S., et al. (2001). Inflammatory response and body composition in chronic obstructive pulmonary disease. *Am Journal Respiratory Critical Care Medicine*, (164):1414– 1418.
32. Fong Y., Moldawer L.L., et al. (1989). Cachectin /TNF or IL-1 alpha induces cachexia with redistribution of body proteins. *Am J Physiology* (256):659–665.
33. Moldawer L.L., Svaninger G., et al. (1987). Interleukin 1 and tumor necrosis factor do not regulate protein balance in skeletal muscle. *Am Journal Physiology* (253):766–773.
34. Meier B., Radeke H.H., et al. (1989). Human fibroblasts release reactive oxygen species in response to interleukin-1 or tumour necrosis factor-alpha. *Biochem Journal*, (263):539–545.
35. Buck M, Chojkier (1996). Muscle wasting and dedifferentiation induced by oxidative stress in a murine model of cachexia is prevented by inhibitors of nitric oxide synthesis and antioxidants. *EMBO Journal*, (15):1753–1765.
36. Ostrowski K., Rohde T., et al. (1999). Pro- and anti-inflammatory cytokine balance in strenuous exercise in humans. *Journal Physiology*, (515):287–291.
37. Drenth J.P., Van Uum S.H., et al. (1995). Endurance run increases circulating IL- 6 and IL-1ra but downregulates ex vivo TNFalpha and IL-1 beta production. *J Appl Physiology*, (79):1497–1503.
38. Zhang M., Xie Y., (2016). Curcumin ameliorates alveolar epithelial injury in a rat model of chronic obstructive pulmonary disease. *Life Sciences*, (164): 1-8.
39. Singh S., Verma S.K., et al. (2016). Evaluation of oxidative stress and antioxidant status in chronic obstructive pulmonary disease. *Scandinavian Journal of immunology*. 130-137.
40. Mahmoud A., El wakeel L., et al. (2013). High dose N-acetyl Cysteine improves inflammatory response and outcome in patients with COPD exacerbations. (62), 51-57.

41. Footitt J., Mallia P., et al.(2016). Oxidative and nitrosative stress and histone deacetylase-2 activity in exacerbations of COPD. *CHEST*,149(1): 62-73.
42. Mercken E.M., Hageman G.J., et al. (2005). Rehabilitation decreases exercise-induced oxidative stress in chronic obstructive pulmonary disease. *Am Journal Respiratory Critical Care Medicine*, (172): 994-1001.
43. Dal Negro R.W., Visconti M., et al.(2007). Changes in blood ROS, e-NO, and some pro-inflammatory mediators in bronchial secretions following erdosteine or placebo: a controlled study in current smokers with mild COPD. *Pulmonary Pharmacology & Therapeutics*, (21): 304-308.
44. Pinho R.A., Chiesa D., et al. (2007). Oxidative stress in chronic obstructive pulmonary disease patients submitted to a rehabilitation program. *Journal Respiratory Medicine* (101): 1830-1835.
45. Xiao J. et al. (2015). Effects of resveratrol and genistein on nuclear factor- $\kappa$ B, tumor necrosis factor- $\alpha$  and matrix metalloproteinase-9 in patients with COPD. *Molecular medicine reports* (13): 4266-4272.
46. Somaiek M. et al. (2018). The effect of conjugated linoleic acid on oxidative stress and matrix metalloproteinases 2 and 9 in patients with COPD. *International journal of COPD* (13): 1449-1454.
47. Zhang J. et al. (2017). Therapeutic effects of stemonine on particulate matter 2,5-induced chronic obstructive pulmonary disease in mice. *Experimental and therapeutic medicine* (14): 4453-4459.
48. Wang X. et al. (2017). The effects of resveratrol on inflammation and oxidative stress in a rat model of COPD. *Journal molecules* (22): 1529-1572.
49. Barroso M. et al. (2017). Propolis reversed cigarette smoke-induced emphysema through macrophage alternative activation independent of Nrf2. *Bioorganic and medicinal chemistry* (25): 5557-5568.
50. Chunlei L. et al. (2017). Recuperating lung decoction attenuates inflammation and oxidation in cigarette smoke-induced COPD in rat via activation of ERK and Nrf2 pathways. *Journal cell biochemistry and function* (35): 278-286.
51. Propac P. et al. (2017). Targeting free radical in oxidative stress-related human diseases. *Trends in pharmacological sciences* (38):592-608.

52. Gaetano Caramoni et al. (2016). COPD Immunopathology. *Semin Immunopathol* (38):497–515.
53. Martinez-Aguilar et al. (2017). Inmunopatología de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica. *Revista Alergia (MEX)* (64): 327-346.
54. Epelman S et al. (2014). Origin and functions of tissue macrophages. *Immunity*. (41): 21-35.
55. Gordon S. et al. (2014). Macrophage heterogeneity in tissues: phenotypic diversity and functions. *Immunology* (262): 36-55.
56. Barnes P. et al. (2016). Inflammatory mechanisms in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Allergy clinical immunology* (138): 16-27.
57. Gasiuniene E. et al. (2016). Levels of IL-32 in serum, induced sputum supernatant, and bronchial lavage fluid of patients with COPD. *COPD* (5): 596-575.
58. Ingel K. et. Al. (2006). Role of apoptosis in the pathogenesis of COPD and pulmonary emphysema. *Respiratory Research* (7): 1-53.
59. Chiara C. et al. (2017). Role of the inflammasome in COPD. *Oncotarget* (8): 81813-81824.
60. Bartesaghi S. et al. (2018). Fundamentals on the biochemistry of peroxynitrite and protein tyrosine nitration. *Redox biology* (14): 618-625.
61. Taivassago T. et. Al (2016). Contribution of the mitochondria to locomotor muscle dysfunction in COPD patient. *CHEST* (186): 1-38.
62. Venereo J. (2002). Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Revista cubana de medicina* (2): 126-133.
63. Francois M. et al. (2013). An official American thoracic society / European respiratory society statement: Update on limb muscle dysfunction in COPD. *J. Respiratory Crit. Care Med.* (198): e15-e62.