



**UNIVERSIDAD DE CHILE  
FACULTAD DE MEDICINA  
ESCUELA DE TECNOLOGÍA MÉDICA**

## **TESIS PROFESIONAL**

Para optar al título de Tecnólogo Médico con mención en Bioanálisis Clínico Molecular,  
Hematología y Medicina Transfusional

# **“CUANTIFICACIÓN DE ADENOSIN DEAMINASA (ADA) EN ADULTOS INMUNOCOMPETENTES CON NEUMONÍA ADQUIRIDA EN LA COMUNIDAD (NAC)”**

**JAVIERA RUBILAR RETAMAL**

**TUTORA: DRA. VIVIAN LUCHSINGER FARIAS<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Laboratorio De Virus Respiratorios del Programa de Virología  
Instituto de Ciencias Biomédicas (ICBM), Universidad de Chile

**2023**



UNIVERSIDAD DE CHILE  
FACULTAD DE MEDICINA  
ESCUELA DE TECNOLOGÍA MÉDICA

## TESIS PROFESIONAL

Para optar al título de Tecnólogo Médico con mención en Bioanálisis Clínico Molecular,  
Hematología y Medicina Transfusional

### “CUANTIFICACIÓN DE ADENOSIN DEAMINASA (ADA) EN ADULTOS INMUNOCOMPETENTES CON NEUMONÍA ADQUIRIDA EN LA COMUNIDAD (NAC)”

Dra. Vivian Luchsinger Farias

Tutora

Javiera Rubilar Retamal

Tesista

JAVIERA RUBILAR RETAMAL

TUTORA: DRA. VIVIAN LUCHSINGER FARIAS<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio De Virus Respiratorios del Programa de Virología  
Instituto de Ciencias Biomédicas (ICBM), Universidad de Chile

2023

## **Agradecimientos**

Quisiera agradecer a mi madre Teresa que me ha apoyado incondicionalmente en todo mi camino durante la carrera y vida, a mis hermanos Cristóbal y Sophia por brindarme su ayuda y a mi padre Juan, por todo el apoyo durante este proceso. A todo el equipo del Laboratorio de Virus Respiratorios y a la Profesora Vivian Luchsinger por la oportunidad de desarrollar esta tesis y por las enseñanzas que me llevo. A mis compañeros de carrera, a mis amigas Javi, Maira, Izzy, Dani y a Vale que estuvieron animándome siempre.

## INDICE

1.	Introducción.....	7
1.1.	Adenosín deaminasa .....	7
1.2.	Alteración de los niveles de adenosín deaminasa .....	9
1.3.	Utilidad clínica de adenosín deaminasa .....	11
1.4.	Neumonía Adquirida en la Comunidad (NAC).....	11
1.5.	NAC en Chile.....	13
1.6.	Escalas clínicas pronósticas para la clasificación de gravedad de la NAC en adultos.....	13
1.7.	Tratamiento de la NAC.....	15
1.8.	Relación de ADA y NAC en la literatura .....	15
2.	Hipótesis.....	16
3.	Objetivos .....	17
4.	Materiales y métodos .....	17
4.1.	Muestras.....	17
4.2.	Detección de agentes infecciosos .....	19
4.3.	Determinación de la actividad de ADA mediante espectrofotometría (29)..	19
4.4.	Determinación de la concentración de ADA mediante inmunoensayo quimioluminiscente (30).....	20
4.5.	Análisis estadísticos.....	21
4.6.	Financiamiento .....	22
5.	Resultados .....	23
5.1.	Población estudiada.....	23
5.2.	Distribución de sexo .....	23
5.3.	Actividad enzimática de ADA.....	26
5.4.	Concentración enzimática de ADA.....	35
5.5.	Correlación de actividad de ADA sistémica y concentración de ADA en 19 adultos con NAC según gravedad.....	39
6.	Discusión.....	45
7.	Conclusiones .....	49
	Anexos	50
	Bibliografía.....	55

## Resumen

**Antecedentes:** Adenosín deaminasa (ADA) es una enzima que participa en el metabolismo de las purinas y en la proliferación y maduración de linfocitos T. La neumonía adquirida en la comunidad (NAC) es una enfermedad respiratoria con una tasa de mortalidad en Chile entre 12,7 a 15,3 por cada 1000 habitantes en adultos mayores de 65 años, siendo la séptima causa de muerte en nuestro país. Debido al rol de ADA en la activación del sistema inmune y a la disminución de la expresión del gen *ada* en pacientes graves, es de interés estudiar el papel de ADA en la evolución de la NAC ante la necesidad de buscar nuevos biomarcadores de pronóstico y evolución de esta enfermedad.

**Hipótesis:** La actividad enzimática y la concentración de ADA sistémica están disminuidas en adultos graves con NAC respecto a los pacientes no graves.

**Objetivo:** Determinar si la actividad enzimática y la concentración de ADA sistémica están disminuidas en adultos graves con NAC respecto a los no graves.

**Metodología:** En sangre de 138 adultos enrolados en 3 hospitales de la Región Metropolitana, entre los años 2017-2019, se cuantificó la actividad enzimática de ADA por espectrofotometría, y en 19 de estos, se determinó la concentración de ADA mediante quimioluminiscencia. Los resultados obtenidos se compararon entre graves y no graves según puntuación FINE, requerimiento de oxigenoterapia, ingreso a UCI y fallecimiento.

**Resultados:** La actividad enzimática de ADA total fue similar entre los pacientes graves y no graves clasificados según FINE, ingreso a UCI y fallecimiento, tanto en suero como en plasma ( $p > 0,05$ ). La actividad y las concentraciones de la enzima fueron menores en los pacientes con oxigenoterapia respecto a los sin oxígeno, en suero y en plasma. La concentración de ADA en pacientes graves y no graves no mostraron diferencias

significativas entre enfermos graves y no graves ( $p > 0,24$ ) y no se correlacionó con la actividad enzimática en enfermos graves ni no graves ( $r \approx 0$ ;  $p > 0,05$ ).

**Conclusión:** La actividad enzimática y la concentración de ADA no difieren según la gravedad de la NAC en adultos por lo que se requiere continuar con la búsqueda de nuevos biomarcadores para pacientes con NAC.

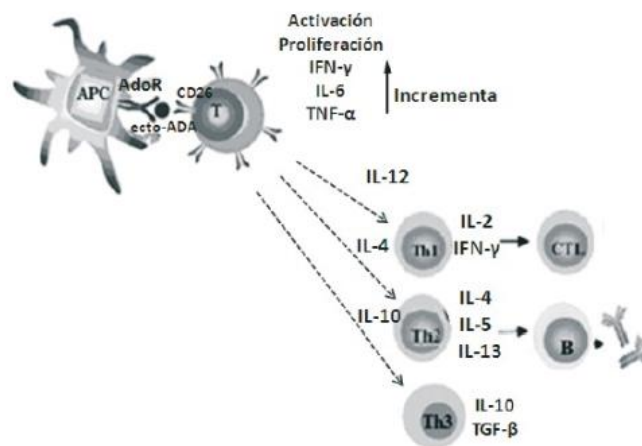
## 1. Introducción

### 1.1. Adenosín deaminasa

Adenosín deaminasa (ADA) es una enzima clave en el reciclaje de purinas, al catalizar la desaminación de adenosina (Ado) y desoxiadenosina (dAdo) en inosina (Ino) y desoxi-inosina (dIno), respectivamente, que son convertidos en ácido úrico y eliminados por la orina o las heces (1). Este proceso evita el elevado costo energético de la síntesis de *novó* de purinas (que requiere de 6 moles de ATP para generar 1 mol de nucleótido) (1). ADA es una *proteína* monomérica de 41 kDa, que al ser removida su región N-terminal postranscripcional, produce una enzima de 332 aminoácidos dependientes de Zinc (1,2,3), presente tanto en el citoplasma como en la superficie de las células (1). En el citoplasma tiene una actividad hidrolasa y actúa sobre el enlace de carbono y nitrógeno de amidas cíclicas para transformar Ado y dAdo a Ino y dIno, regulando así las concentraciones intra y extracelular de estas moléculas y evitando el efecto nocivo de estos metabolitos (1,2,3,4,5). Por otro lado, en la superficie de las células se le considera una ecto-enzima, donde ADA forma un complejo con la proteína de membrana dipeptidil peptidasa IV (CD26), que se expresa en células epiteliales del túbulo proximal del riñón, intestino, conducto biliar y linfocitos T (1,2,3).

ADA es una enzima polimórfica, existiendo 2 isoformas: ADA-1 y ADA-2. En algunos documentos se habla de una tercera isoforma denominada ecto-ADA, la cual corresponde a la isoforma ADA-1 unida al receptor CD26 en los linfocitos T (1,2,3). ADA-1 está presente en todos los tejidos y es la isoforma predominante; tiene una actividad óptima a pH 7-7,5, contribuyendo al 90% de la actividad total de ADA y es inhibida completamente con eritro-9(2—hidroxinon-3-il) adenina (EHNA). Además, sus niveles tisulares son mayores en el timo y menores en los eritrocitos, pero a pesar de las variaciones de actividad celular que puedan producirse entre células, su principal

papel es garantizar concentraciones bajas de Ado y dAdo para evitar un efecto nocivo en las células del sistema inmune (1,2,3). Por otra parte, ADA-2 es una isoforma resultante de una transición de nucleótido (G→A) en el nucleótido 22, ocasionando un cambio de Asp8Asn (1). Esta isoforma coexiste con ADA-1 solo en monocitos y macrófagos y es liberada frente a la infección por microorganismos, no es inhibida por EHNA y su pH óptimo es 6,5. Al igual que ADA-1, actúa para mantener el equilibrio de Ado y dAdo, teniendo ambas la misma afinidad por Ado, pero ADA-2 posee una menor afinidad por dAdo por lo que en las formas celulares que poseen ADA-2 presentan bajas concentraciones de Ado (1,3). Con respecto a ecto-ADA, la cual corresponde a ADA-1 unido a CD26, participa en la activación de linfocitos T. También se ha detectado en la superficie de células B y monocitos de sangre periférica (2,3).



**Figura 1. Interacción ADA-CD26 en la sinapsis inmunológica (3).** Fuente: Pérez-Aguilar Mary Carmen, et. al. Adenosin deaminasa como molécula coestimuladora y marcador de inmunidad celular.

Frente a daño celular, contacto con microorganismos exógenos y citoquinas inflamatorias, ecto-ADA va a estimular la proliferación y maduración de linfocitos T, uniéndose al receptor de adenosina (AdoR) que se encuentra ubicado en la



membrana de las células dendríticas (célula presentadora de antígeno) y esta unión interactuará con la proteína CD26 expresada en las células T (3). Esta interacción (ADA-CD26) va a producir una señal coestimuladora, potenciando e incrementando la secreción de interferón gamma (INF $\gamma$ ), factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) e interleuquina 6 (IL-6) y aumentando la activación de células Th1 (2,3). De esta forma, ADA forma parte de la sinapsis inmunológica y es considerada como un biomarcador de la respuesta inmune celular, pudiendo medir sus niveles en sangre para predecir una disfunción inmunológica (1,2,3,4).

En resumen, ADA posee diferentes funciones biológicas, tales como la transferencia de energía y la señalización celular en distintos tejidos, principalmente en tejido linfoide como el timo, el cerebro y el tracto digestivo, activando la proliferación y maduración de los linfocitos T mediante su unión con la proteína dipeptidil peptidasa IV (CD26) (1,2,3,4,5).

## **1.2. Alteración de los niveles de adenosín deaminasa**

### **1.2.1. Disminución de los niveles de adenosín deaminasa**

El déficit o la disminución de los niveles de ADA, limita la transformación de Ado por lo que aumenta dAdo en orina y plasma (1). Este incremento afecta la función del sistema inmune generando una inmunodeficiencia combinada grave (SCID, sigla en inglés) debido al déficit de ADA (1,3).

Esta enfermedad se caracteriza por el desequilibrio en la respuesta inmune celular y humoral, determinando una mayor susceptibilidad a infecciones (1).

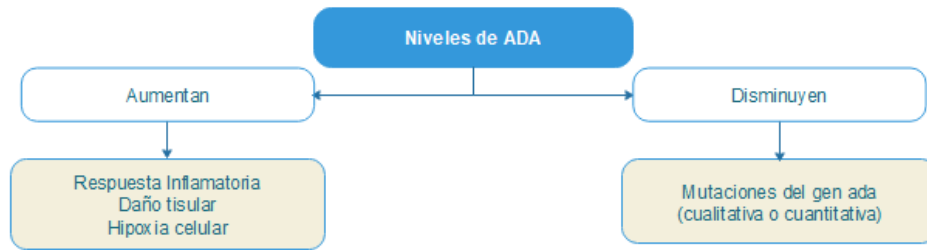
Una de las causas del SCID, es el déficit de ADA.

Este cuadro puede ocurrir por mutaciones en el gen *ada* que codifica para esta enzima y se ubica en el cromosoma 20q12-q13.11, o por una deficiencia parcial de ADA con una actividad enzimática baja (1,2,3). Estas alteraciones

conlleven a una disminución de la enzima y su actividad, interrumpiéndose la degradación de Ado y dAdo, aumentando su concentración intracelular. Este aumento provoca una elevación de los niveles de adenosín trifosfato (ATP) y deoxiadenosin trifosfato (dATP), este último ocasiona un efecto tóxico sobre la ribonucleótido reductasa (RR), enzima clave en la síntesis de ADN, causando un efecto nocivo a los linfocitos T (1,5,6). En consecuencia, el déficit de esta enzima genera una acumulación de dAdo que junto a Ado son indetectables en condiciones fisiológicas y frente a este aumento, se produce el incremento de dATP, provocando un efecto tóxico en los precursores linfoides, produciendo deficiencia en la proliferación y la respuesta inmune (1,5,6).

### **1.2.2. Aumento de los niveles de adenosín deaminasa**

Por otra parte, el aumento de actividad de ADA es consecuencia de la respuesta inflamatoria y el daño tisular (2). Este aumento se ha descrito en los trastornos hipertensivos del embarazo, infarto agudo al miocardio, hepatopatías, diabetes, algunas neoplasias, como leucemia linfoblástica aguda, cáncer de mamas, cáncer gástrico, entre otros, y también en diversas enfermedades infecciosas que son causadas principalmente por microorganismos patógenos, como lo es el SIDA (Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida), la pleuritis tuberculosa, entre otros (2,3,6,7). Además, se ha descrito que frente a hipoxia crónica se produce un estímulo en la actividad de ADA como una adaptación metabólica para contrarrestar el aumento de los niveles de Ado (6).



**Figura 2. Alteraciones de los niveles de ADA en el organismo.**

### 1.3. Utilidad clínica de adenosín deaminasa

En el ámbito clínico, la medición de la actividad de ADA es utilizada como complemento en el diagnóstico de pleuritis y meningitis tuberculosa, midiéndose en líquido pleural y líquido cefalorraquídeo (LCR) (8,9). El nivel de corte en adultos de la enzima para meningitis y pleuritis tuberculosas corresponde a  $\geq 11,3$  U/L en LCR (8) y  $\geq 40$  U/L en líquido pleural, respectivamente (9). Por otra parte, la determinación de ADA en clínica se realiza principalmente en suero con el fin apoyar al diagnóstico de pacientes con hepatopatías, en quienes la actividad de ADA se encuentra en niveles  $>18$  U/L (10,11). Respecto a la actividad enzimática de ADA en suero, los valores en sujetos sanos se encuentran entre  $11 \pm 4$  U/L (11,12). No se encontraron antecedentes del uso clínico de la medición de la actividad enzimática de ADA en pacientes adultos con NAC, por lo que en esta tesis se analizarán con el objetivo de determinar si se encuentran disminuidos o aumentados y además si existen diferencias al realizar las determinaciones en suero y/o plasma. Esto último porque se desconocen los niveles plasmáticos de ADA y se sabe que la concentración del sustrato Ado varía en plasma, por lo que podría ser una muestra más apropiada para utilizar ADA como biomarcador.

### 1.4. Neumonía Adquirida en la Comunidad (NAC)

La neumonía es una enfermedad infecciosa del tracto respiratorio, que afecta el parénquima pulmonar, involucrando la porción distal de las vías respiratorias y puede

llegar al intersticio alveolar (13,14). La infección produce un infiltrado celular que causa inflamación del espacio alveolar que dificulta el intercambio de gases, causando insuficiencia respiratoria (13).

La fisiopatología de la neumonía comienza cuando el sistema inmune pulmonar es sobrepasado por microorganismos patógenos que atacan la superficie alveolar. Factores genéticos, la edad, el ambiente y otros factores como el tabaquismo, pueden deteriorar la funcionalidad del sistema inmune y facilitar el desarrollo de una neumonía (13,14).

Los signos clínicos de esta enfermedad son fiebre, tos, expectoración, taquipnea, disnea, dolor torácico y signos físicos como estertores, matidez pulmonar, entre otros (13,15). Para su diagnóstico presuntivo, el paciente debe presentar por lo menos 2 de los síntomas y la confirmación se realiza a través de una radiografía de tórax (15).

Para que una neumonía sea considerada como Neumonía Adquirida en la Comunidad (NAC), el paciente debe iniciar los signos y síntomas sin estar hospitalizado o, máximo, en las primeras 48 horas luego de su ingreso (13,14).

El agente infeccioso más frecuente de esta enfermedad en adultos es la bacteria *Streptococcus pneumoniae*, seguido por *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus*, enterobacterias gramnegativas como *Pseudomonas aeruginosa*, agentes atípicos *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*, *Legionella pneumophila* y virus respiratorios (13,15,16).

Existe una relación entre la incidencia de NAC y la edad, siendo los adultos mayores de 65 años quienes con mayor frecuencia presentan esta enfermedad debido a la disminuida acción del sistema inmune frente a distintos microorganismos (14,15,16). El consumo de tabaco y alcohol, desnutrición y obesidad mórbida también aumentan

su incidencia (15,16). Así mismo, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), enfermedades cerebrovasculares, diabetes mellitus, neoplasias, enfermedades renales, VIH y enfermedades cardiovasculares aumentan el riesgo de NAC (15,16).

La incidencia anual en el adulto es 1,07 a 1,2 casos por cada 1000 personas-año o 1,5 a 1,7 casos por cada 1000 habitantes, elevándose a 12,7 a 15,3 casos por cada 1000 personas-año en adultos mayores de 65 años (17).

### **1.5. NAC en Chile**

En nuestro país, el agente bacteriano más prevalente causante de neumonía es *Streptococcus pneumoniae*, provocando alrededor de 2/3 de los casos anuales de NAC, en período no pandémico (14). Sin embargo, la mejora en las técnicas de detección ha aumentado la detección de virus respiratorios y bacterias atípicas (18). Las enfermedades respiratorias son la tercera causa de muerte en nuestro país; falleciendo 1 de cada 10 personas por alguna causa respiratoria, principalmente influenza y neumonía (14). La NAC es la séptima causa de muerte en nuestro país, principalmente en adultos mayores (19).

Las defunciones registradas por neumonía e influenza fueron 3304 durante el año 2016, con una tasa de mortalidad de 14,4 personas por 100000 habitantes, siendo el grupo etario de los adultos mayores de 65 años quienes concentran alrededor del 85% de las muertes con una tasa de 145,6 por 100000 habitantes (14).

### **1.6. Escalas clínicas pronósticas para la clasificación de gravedad de la NAC en adultos**

La neumonía puede evolucionar a una forma grave independiente del agente causante de la infección, dependiendo de factores como el estado del sistema inmune, la edad, comorbilidades y factores ambientales (14).

La respuesta inmune humoral es crítica en la prevención y en la recuperación de la infección, detectándose niveles de inmunoglobulinas (IGs) disminuidos en adultos con NAC en comparación con controles y también en pacientes hospitalizados versus sanos (20). Junto con esto, se ha descrito linfocitopenia en pacientes con NAC, con disminución de linfocitos T y subpoblaciones de células T (19).

Para definir la gravedad del paciente con NAC y pronosticar la mortalidad frente a la infección se aplican diversos índices pronósticos clínicos. Los índices utilizados en nuestro país son el Índice de Severidad de la Neumonía (PSI) o *FINE* (14,21,22) y CURB-56 (14).

La escala PSI fue propuesta por la American Thoracic Society (ATS) a partir de datos extraídos de una cohorte de 14.199 adultos hospitalizados por NAC y fue validado posteriormente en un segundo grupo de 2.287 pacientes ambulatorios y hospitalizados (23,24). Esta escala considera la edad, presencia de ciertas comorbilidades y elementos clínicos de gravedad y clasifica a los pacientes en 5 grupos de riesgo con porcentajes crecientes de mortalidad según el puntaje que obtengan (23, 24). (Anexo 1).

El índice CURB-56, propuesto por la Sociedad Británica de Tórax (BTS), está basado en parámetros clínicos y de laboratorio, permitiendo identificar los casos más graves de NAC (24, 25). Clasifica a los pacientes en 3 niveles de gravedad, recomendando manejo ambulatorio, control estrecho u hospitalización del paciente según el nivel y la mortalidad asociada. La Guía GES para NAC en personas mayores de 65 años del MINSAL recomienda utilizar esta escala (14). (Anexo 2). Sin embargo, ambas escalas cometen errores en la clasificación de los pacientes, por lo que se requieren nuevos marcadores pronósticos (26).

### **1.7. Tratamiento de la NAC**

El tratamiento de la NAC es principalmente empírico y los antibióticos a elección son determinados por distintos factores, como la epidemiología local de la etiología microbiana y su resistencia bacteriana, la farmacocinética, farmacodinamia y espectro de acción del antimicrobiano, la disponibilidad del medicamento, su nivel de tolerancia, reacciones adversas y costo, entre otros factores (14). Así mismo, hay que considerar las circunstancias personales del enfermo y la gravedad del cuadro clínico. Esta se define en base a escalas clínicas pronósticas, siendo las más utilizadas CURB-65 y el Índice de Severidad de la Neumonía (PSI) (14,15).

De acuerdo con la guía ministerial, tras el diagnóstico de NAC y su gravedad, se debe iniciar el tratamiento antimicrobiano por vía oral durante las primeras 48 horas con amoxicilina y/o azitromicina en caso de pacientes alérgicos a la penicilina (14,15). Si la respuesta es adecuada luego de estas primeras 48 horas, se indica completar el tratamiento por 7 días (14).

### **1.8. Relación de ADA y NAC en la literatura**

Se ha descrito que la concentración sérica de ADA se encuentra elevada en pacientes con NAC (12). También se ha señalado su uso como un orientador en la etiología de NAC, detectándose valores de ADA elevados en infecciones por microorganismos patógenos atípicos como *Mycoplasma pneumoniae*, *Coxiella burnetii*, *Chlamydia* spp., *Legionella* spp. y virus, mientras que sus valores se mantienen dentro de los rangos normales en microorganismos patógenos comunes causantes de este cuadro como *Streptococcus pneumoniae*, bacilos Gram negativos, *Staphylococcus aureus* y anaerobios (27).

En un estudio anterior, realizado por Daniel Moya bajo la tutoría de la Dra. Vivian Luchsinger, se describió en adultos con NAC graves la disminución de ciertas

poblaciones linfocitarias, principalmente de poblaciones de linfocitos T, lo que podría predisponer al paciente a generar un cuadro grave de la enfermedad. Conociendo el rol que tiene ADA en la proliferación y maduración de las células del sistema inmune, podría contribuir a estos niveles disminuidos de esta enzima en adultos con NAC graves (28) (Anexo 3).

Junto con lo anterior, en un estudio aún no publicado por la Dra. Luchsinger, mediante estudios de expresión génica en sangre con microarreglos, se encontró en pacientes adultos con NAC graves una expresión disminuida del gen *ada*, obteniendo una proporción de cambio de 1,57 (proporción de veces de cambio en la expresión NAC no graves vs NAC graves) con un  $p= 0,0014$ , lo que podría relacionarse con la disminución de poblaciones linfocitarias en estos pacientes.

De esta forma, debido a que en nuestro país la neumonía corresponde a una de las principales causas de muerte por cuadros respiratorios (14,17), que en adultos con NAC graves ciertas poblaciones linfocitarias se encuentran disminuidas (28), que ADA contribuye a mantener estas poblaciones, que en investigaciones previas no publicadas se determinó una expresión disminuida del gen *ada* en adultos con NAC graves respecto a los no graves (Anexo 4), y que no se ha estudiado ADA en adultos con NAC, es de interés estudiar el papel que cumple ADA en la evolución de la NAC. Más aún dado que, aunque se conocen algunos factores de riesgo de desarrollo de una NAC grave, como edad e inmunodeficiencia, hay pacientes sin estos factores de riesgo que fallecen por esta enfermedad, por lo que se sigue en la búsqueda de nuevos biomarcadores para conocer el pronóstico y la evolución de la enfermedad.

## **2. Hipótesis**

La actividad enzimática y la concentración de ADA sistémica están disminuidas en adultos graves con NAC respecto a los pacientes no graves.



### **3. Objetivos**

#### **Objetivo general**

Determinar si la actividad enzimática de ADA sistémica y la concentración de ADA sistémica están disminuidas en adultos graves con NAC respecto a los no graves.

#### **Objetivos específicos**

- 3.1.1.** Relacionar la actividad de ADA sistémica en pacientes con NAC con la gravedad del cuadro.
- 3.1.2.** Comparar la concentración de ADA en suero y plasma en adultos con NAC graves y no graves.
- 3.1.3.** Relacionar la actividad de ADA sistémica con la concentración de ADA con la gravedad del cuadro de NAC.
- 3.1.4.** Comparar la actividad enzimática de ADA en suero y plasma en adultos con NAC graves y no graves.

### **4. Materiales y métodos**

#### **4.1. Muestras**

Los participantes de este estudio fueron enrolados en tres hospitales de la Región Metropolitana: Hospital Clínico de la Universidad de Chile (HCUCH), Hospital San José y el Hospital de Enfermedades Infecciosas Dr. Lucio Córdova, durante los años 2017-2019.

Todos los pacientes enrolados manifestaron su decisión voluntaria de participar en el estudio mediante la firma del consentimiento informado. El estudio fue aprobado por el Comité de Ética de Investigación de Seres Humanos de la Facultad de Medicina de la Universidad Chile (Acta N°009/2017), del Hospital Clínico de la Universidad de Chile

(Acta N°12 /2017), el Comité Ético Científico del Servicio de Salud Metropolitano Sur (Memorándum N°142/2017) y refrendado por el Comité Ético Científico del Servicio de Salud Metropolitano Norte (Carta N°075/2017).

Los criterios de inclusión para la selección de los pacientes que forman parte del estudio fueron: personas adultas mayores de 18 años diagnosticadas con NAC, inmunocompetentes, hospitalizados. Se excluyeron a los pacientes con antecedentes de hospitalización durante las tres semanas previas a la hospitalización por NAC; pacientes inmunosuprimidos o con tratamiento inmunosupresor (corticoides) como portadores de VIH, diálisis, en terapia oncológica, etc.

Las muestras de sangre ya se encontraban tomadas a la fecha de inicio de esta tesis. Se obtuvieron en las primeras 24 horas de hospitalización de cada paciente mediante punción venosa periférica y los sueros y plasmas utilizados en esta tesis fueron alicuotadas en tubos eppendorf de 300 uL y guardadas de inmediato a -80°C hasta su uso en el Laboratorio de Virología y Virus Respiratorios de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile. El suero se obtuvo de la muestra de sangre depositada en tubo sin anticoagulante, que permaneció a temperatura ambiente hasta la formación del coágulo tras lo cual se centrifugó a 2500 rpm por 15 minutos a temperatura ambiente en centrífuga HANSHIN® modelo HC-16 A. El plasma se obtuvo desde una muestra de sangre depositada en un tubo con EDTA, centrifugada por 5 minutos a 2000 rpm en centrífuga refrigerada a 4°C Boeco U-32R®.

La clasificación de pacientes graves y no graves se basó en los siguientes criterios: puntuación en escala FINE, ingreso en UCI, requerimiento de oxigenoterapia y fallecimiento. Se clasificaron como graves a los pacientes de los grupos 3 a 5 por puntuación en la escala FINE, que requirieron oxigenoterapia, ingresaron a la UCI y/o

fallecieron. Los pacientes no graves incluyeron a los grupos 1 a 2 en escala FINE, no requirieron oxígeno, hospitalizados que no ingresaron a UCI y/o no fallecieron.

#### **4.2. Detección de agentes infecciosos**

La detección de agentes infecciosos se realizó en todos los pacientes y previo al inicio de esta tesis, mediante la técnica de reacción de la polimerasa en cadena (PCR) para virus y bacterias respiratorias (ARGENE®, BioMérieux) con muestra respiratoria en torulado o aspirado nasofaríngeo, aspirado traqueal o lavado bronqueoalveolar. Además, se utilizó muestra de orina para la detección de antígeno *Streptococcus pneumoniae*, y *Legionella pneumophila* serogrupo 1 mediante inmunocromatografía (BinaxNOW®, Abbott). Las muestras respiratorias y de orina fueron tomadas junto con las muestras sanguíneas y las detecciones ya estaban realizadas.

#### **4.3. Determinación de la actividad de ADA mediante espectrofotometría (29)**

Se realizaron las mediciones por una vez en 138 muestras de suero y 138 plasma de cada paciente. Se seleccionaron aquellas muestras que no habían sido analizadas previamente. Las muestras se descongelaron a temperatura ambiente para la detección.

La actividad enzimática se determinó con el kit “Adenosine Deaminase Assay” (Diazyme Labs®, USA). En paralelo se analizó cada muestra con y sin el inhibidor específico de la isoforma ADA-1, eritro-9(2-hidroxinon-3-il) adenina (EHNA) (0,5 uL), para cuantificar la actividad de la isoforma ADA-2. Por tanto, se midió la actividad total de ADA sistémica (sin inhibidor) y la actividad de ADA sistémica en presencia de ENHA. El valor obtenido en el ensayo con inhibidor se considerará como la actividad de la isoforma ADA-2 y la diferencia de la actividad de ADA total y la actividad de ADA-2, se considerará como la actividad de ADA-1 ( $ADA\ total - ADA-2 = ADA-1$ ), pudiendo establecer la actividad enzimática predominante.

En la placa se incluyó el calibrador y el blanco para la realización de la curva de calibración de dos puntos junto a 2 controles positivos, siendo uno un nivel 1 ( $30,8 \pm 5,2$  U/L) y otro de nivel 2 ( $144,0 \pm 24,5$  U/L). Así mismo, se posicionaron las muestras de plasma y suero en duplicado, sin EHNA y con EHNA.

El rango de linealidad del kit es entre 0-200 U/L.

La medición se realizó de inmediato a 550 nm en el lector multi-modal SYNERGY HTX de BioTek®.

Los resultados obtenidos se traspasaron a un archivo Excel® (Microsoft™). Para el análisis, los resultados negativos se consideraron como valor cero (0,00), debido a que no tiene sentido biológico un resultado menor a cero.

#### **4.4. Determinación de la concentración de ADA mediante inmunoensayo quimioluminiscente (30)**

La determinación de las concentraciones de ADA sistémica se realizó mediante inmunoensayo quimioluminiscente (CLIA por sus siglas en inglés); con el kit “Human ADA (Adenosine Deaminase)” de Novus Biologicals® que permite la determinación in vitro de la concentración de ADA en suero, plasma y otros líquidos biológicos utilizando el principio de “sándwich”. La placa de micro-CLIA de este kit está recubierta por un anticuerpo específico anti-ADA humana.

Las muestras de suero y plasma almacenadas a  $-80^{\circ}\text{C}$  se descongelaron a temperatura ambiente y, junto con los controles, se agregaron a cada pocillo de la placa. La incubación se realiza a  $37^{\circ}\text{C}$  por 90 minutos para que interaccione el anticuerpo específico con la enzima presente en la muestra. Posteriormente, se agrega un segundo anticuerpo específico para ADA humana, incubando por una hora a  $37^{\circ}\text{C}$ , y después se le añade peroxidasa de rábano conjugado a avidina (HRP) en

cada pocillo de la microplaca y se incubó por 30 minutos a 37°C. Luego de esto, se lavan las placas eliminando los componentes libres que no interaccionaron con el anticuerpo anti-ADA humana, detectándose el RLU (Relative Luminescence Units) en aquellos pocillos en donde se genere la reacción antígeno-anticuerpo.

La especificidad de este kit corresponde a la detección de ADA humana, por lo que no hay interferencias o reacciones cruzadas significativas entre ADA humana y enzimas análogas. La sensibilidad mínima es 46,88 pg/mL y el rango de detección fluctúa entre los 78,13 a 5000 pg/mL; con coeficiente de variación menor al 10% (CV < 10%).

En la placa se posicionaron las muestras de plasma y suero de 19 pacientes, junto con 8 estándares para la generación de la curva de calibración. Las mediciones se realizaron por una vez en el lector multi-modal SYNERGY HTX de BioTek® a 450 nm como indicaba el inserto del kit.

Los resultados obtenidos se ingresaron en un archivo Excel® (Microsoft™).

Esta determinación se realizó en 22 pacientes (22 muestras de suero y 22 de plasma), pero los resultados debieron excluirse por medición alterada del RLU por parte del equipo, probablemente debido al vencimiento del kit que se utilizó para realizar la técnica, por lo que para el análisis se incluyeron resultados de 19 pacientes obtenidos previo a la fecha de inicio de esta tesis. Para el análisis de los resultados obtenidos por sobre el límite de detección de la técnica, se consideró el valor máximo posible de ésta (5000 pg/mL) en las muestras, porque no fue posible disponer de reactivos para cuantificar las muestras diluidas.

#### **4.5. Análisis estadísticos**

Las variables cualitativas se describen en proporciones y las cuantitativas en medianas y rangos. Las variables cualitativas se compararon mediante la prueba de

Fisher en QuickCals®. Por otro lado, las variables cuantitativas se analizaron en el programa GraphPad Prism 10®, con la prueba t con corrección de Welch para analizar los resultados de actividad enzimática según gravedad del paciente (grave vs no grave y con oxigenoterapia vs sin oxigenoterapia) y prueba t Mann-Whitney U para el análisis de resultados de actividad enzimática en pacientes UCI vs hospitalizados y en pacientes fallecidos vs no fallecidos, porque uno de los grupos de comparación de cada análisis no cumplió el criterio  $N > 30$  o no cumple con la distribución normal de los datos. Se utilizó la misma prueba para el análisis de la concentración de ADA en suero y plasma en pacientes según su gravedad. Para la correlación de la actividad con la concentración de ADA según la gravedad del paciente, se realizó el análisis con prueba Spearman r, debido al  $n < 30$ . Además, se realizó prueba ANOVA Kruskal-Wallis para analizar la actividad enzimática de adultos con NAC según agente etiológico, debido a que no todos los grupos cumplieron distribución normal o  $n < 30$ .

Se consideró significativo si  $p < 0,05$ .

#### **4.6. Financiamiento**

Este estudio fue financiado por el proyecto FONDECYT Regular N°1171643 (2017-2021) de la Dra. Vivian Luchsinger Farias “*New clinical biomarkers of immunodeficiency and severity in adults with community acquired pneumonia*”.

## 5. Resultados

### 5.1. Población estudiada

En total 138 pacientes fueron incluidos en este estudio, correspondientes a 69 (50,0%) mujeres, 67 (48,55%) hombres y 2 pacientes sin registro del sexo. La mediana de edad de los pacientes fue 70 años, con rango entre 22 y 95 años. Se registró comorbilidad en 130 pacientes (94,2%), siendo las más frecuentes dentro de esta población la hipertensión (n=51; 36,96%), diabetes (n=38; 27,54%) y enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) (n=30; 21,74%). En 58 pacientes (42,03%) se identificó el agente etiológico: en 28 sólo se detectó virus (20,29%), en 20 sólo bacterias (14,49%) (n=20) y en 9 ambos tipos de agentes (6,52%) (mixtas). Los agentes más prevalentes dentro de este grupo fueron: *Streptococcus pneumoniae*. (24; 41,38%) y los virus influenza (19; 32,76%) y rinovirus (11; 18,97%). Los pacientes graves (grupo FINE 3 a 5) eran 88 (63,77%), 42 pacientes no graves (grupo FINE 1 y 2) (30,43%) y 8 pacientes sin información de gravedad (5,8%). El 18,12% (25) de los pacientes de este estudio se encontraba en la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) mientras que el 78,26% estaba hospitalizado en sala (108) y 5 pacientes sin conocimiento de su condición. Por otro lado, 52,17% (72) de los pacientes requirió oxigenoterapia durante su estancia en el hospital, y se desconoce el antecedente en 6 pacientes (4,35%). La mediana de días de hospitalización fue 8 días, con rango entre 1 y 77 días. Dieciocho pacientes (13,04%) fallecieron y se desconoce el desenlace en nueve pacientes (6,52%).

### 5.2. Distribución de sexo

Se analizó la distribución de sexo según gravedad con prueba de Fisher, mediante tabla de contingencia. Para todos los análisis, se excluyeron los pacientes sin información.

De acuerdo a la gravedad según la clasificación FINE, el grupo graves está compuesto por 40 mujeres y 48 hombres, mientras que el grupo no graves está formado por 27 mujeres y 15 hombre (Tabla 1) ( $p= 0,06$ ).

**Tabla 1.** Distribución de 130 adultos con NAC estudiados por sexo y gravedad según escala FINE

	Graves	No graves	Total
Mujeres	40 (30,77%)	27 (20,77%)	67 (51,54%)
Hombres	48 (36,92%)	15 (11,54%)	63 (48,46%)
Total	88 (67,69%)	42 (32,31%)	130 (100%)

Los pacientes con requerimiento de oxigenoterapia fueron 38 mujeres y 34 hombres y en el grupo sin oxigenoterapia se incluyeron 30 mujeres y 30 hombres (Tabla 2) ( $p= 0,86$ ).

**Tabla 2.** Distribución de 132 adultos con NAC estudiados según sexo y requerimiento de oxigenoterapia

	Con oxigenoterapia	Sin oxigenoterapia	Total
Mujeres	38 (28,79%)	30 (22,73%)	68 (51,52%)
Hombres	34 (25,75%)	30 (22,73%)	64 (48,78%)
Total	72 (54,54%)	60 (45,46%)	132 (100%)



Entre los pacientes admitidos en la UCI se incluyeron 15 mujeres y 10 hombres, y entre los hospitalizados en sala 53 mujeres y 55 hombres (Tabla 3),  $p= 0,38$ ).

**Tabla 3.** Distribución de 133 adultos con NAC estudiados según sexo e ingreso a la UCI

	UCI	Hospitalizados	Total
Mujeres	15 (11,28%)	53 (39,85%)	68 (51,13%)
Hombres	10 (7,52%)	55 (41,35%)	65 (48,87%)
Total	25 (18,8%)	108 (81,2%)	133 (100%)

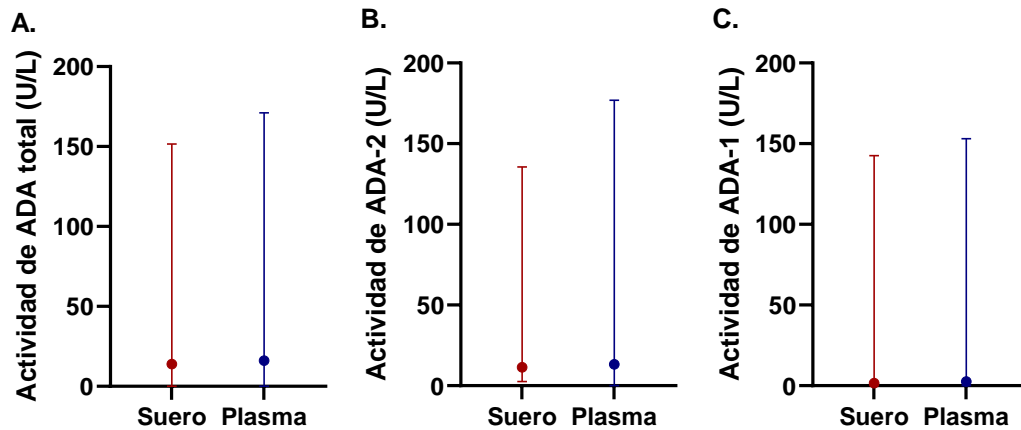
Fallecieron 11 mujeres y 7 hombres y sobrevivieron 66 mujeres y 63 hombres (Tabla 4) ( $p= 0,45$ ).

**Tabla 4.** Distribución de 129 adultos con NAC estudiados según sexo y fallecimiento

	Fallecidos	Sobrevivientes	Total
Mujeres	11 (8,53%)	55 (42,64%)	66 (51,17%)
Hombres	7 (5,42%)	56 (43,41%)	63 (48,83%)
Total	18 (13,95%)	111 (86,05%)	129 (100%)

### 5.3. Actividad enzimática de ADA

Se cuantificó la actividad enzimática de ADA total (sin inhibidor), ADA-2 (con inhibidor) y ADA-1 (ADA total – ADA-2) en suero y plasma de 138 pacientes, los resultados fueron similares entre ambos tipos de muestras ( $p>0,3$ ). Las medianas y rangos de la actividad de ADA en suero y plasma se señalan en la Figura 3.

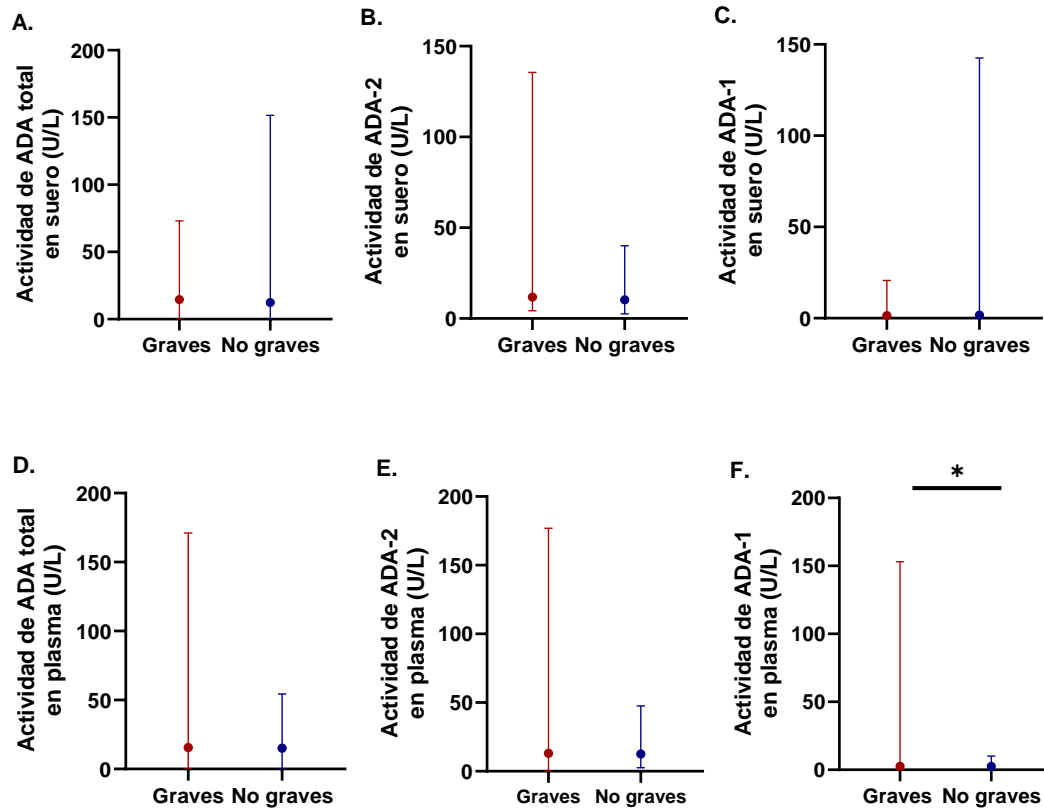


**Figura 3. Actividad enzimática de ADA sistémica en suero y plasma de 138 adultos con NAC.** Se grafican las medianas y rangos totales obtenidos de la actividad enzimática de ADA en suero y plasma. **A. ADA total en suero y plasma:** Mediana (rango): suero 13,88 U/L (151,5); plasma 11,46 U/L (171,0);  $p= 0,52$ . **B. ADA-2 en suero y plasma:** suero 11,38 U/L (133,1); plasma 13,23 U/L (176,9);  $p=0,38$ . **C. ADA-1 en suero y plasma:** suero 1,5 U/L (142,5); plasma 2,57 U/L (153,0);  $p= 0,66$ . Prueba t con corrección de Welch.

### **5.3.1. Actividad de ADA en suero y plasma en pacientes graves y no graves**

Se analizaron muestras de suero y plasma de 130 adultos con NAC, 88 de ellos eran graves y 42 no graves. Se excluyeron los 8 pacientes de los que se desconoce la puntuación FINE.

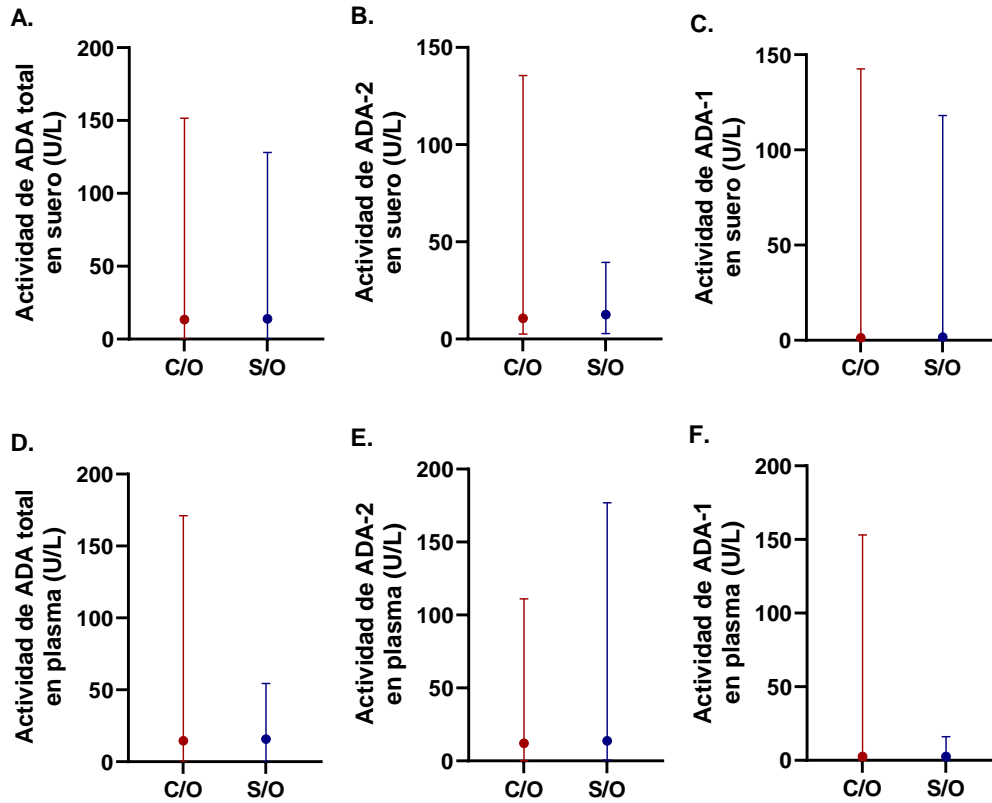
Las medianas de la actividad enzimática de ADA en suero y plasma en los casos graves y no graves se señalan en la Figura 4. Solo se detectó una diferencia significativa en la actividad de ADA-1 medida en plasma (Figura 4F): mediana en grupo grave= 2,5 U/L y rango 153,0 U/L y mediana en grupo no grave= 2,5 U/L con rango 10,03 U/L,  $p= 0,03$ .



**Figura 4. Actividad de ADA sistémica en 88 adultos con NAC graves y 42 no graves.** Se grafican las medianas y los rangos totales obtenidos de la actividad de ADA en los grupos de estudio (n=130). **A. ADA total en suero:** Mediana (rango): enfermos graves 14,59 U/L (73,13); no graves 10,45 U/L (151,5); p=0,34. **B. ADA-2 en suero:** enfermos graves 11,84 U/L (131,3); no graves 10,32 U/L (37,5); p=0,11. **C. ADA-1 en suero:** casos graves 1,39 U/L (20,67); no graves 1,66 U/L (142,5), p=0,13. **D. ADA total en plasma:** enfermos graves 15,5 U/L (171,0); no graves 15,0 U/L (54,38); p=0,056. **E. ADA-2 en plasma:** enfermos graves 13,13 U/L (176,9); no graves 12,59 (44,87); p=0,12. **F. ADA-1 en plasma:** casos graves 2,5 U/L (153,0); no graves 2,5 U/L (10,03); p=0,03. Prueba t con corrección de Welch.

### **5.3.2. Actividad de ADA sistémica en pacientes con y sin oxigenoterapia**

El grupo con oxigenoterapia (C/O) está compuesto por 72 pacientes (38 mujeres y 34 hombres) y el grupo sin oxigenoterapia (S/O) por 60 pacientes (30 mujeres y 30 hombres). Se excluyeron los 6 pacientes sin información. La actividad enzimática de ADA en suero y plasma fue similar entre pacientes con y sin oxigenoterapia ( $p>0,05$ ). Las medianas y rangos de la actividad enzimática de ADA en suero y plasma en los casos C/O y S/O se señalan en la Figura 5.

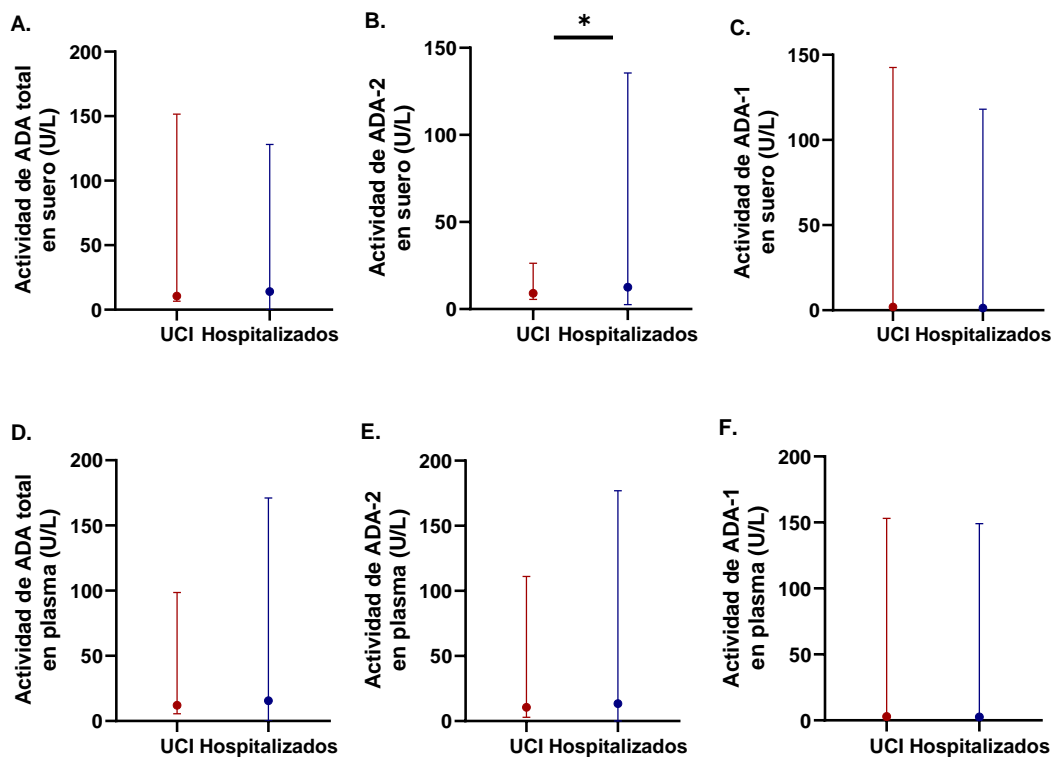


**Figura 5. Actividad de ADA sistémica en 72 pacientes con oxigenoterapia y 60 sin oxigenoterapia.** Se observan las medianas y los rangos totales obtenidos de la actividad de ADA en los grupos de estudio (n=132). **A. ADA total en suero:** Mediana (rango); C/O 13,42 U/L (151,5); S/O 13,96 U/L (128,0); p=0,91. **B ADA-2 en suero:** C/O 10,65 U/L (133,1); S/O 12,5 U/L (36,66); p=0,47. **C. ADA-1 en suero:** C/O 1,25 U/L (142,5); S/O 1,67 U/L (118,0); p=0,88. **D. ADA total en plasma:** C/O 14,5 U/L (171,0); S/O 15,78 U/L (54,38); p=0,36. **E. ADA-2 en plasma:** C/O 12,0 U/L (111,0); S/O 13,77 (176,3); p=0,24. **F. ADA-1 en plasma:** C/O 2,5 U/L (153,0); S/O 2,58 U/L (16,0); p=0,061. Prueba t con corrección de Welch.

### **5.3.3. Actividad de ADA sistémica en adultos con NAC hospitalizados con o sin admisión en UCI**

Se analizaron muestras de suero y plasma de 133 pacientes, 25 de los cuales ingresaron a UCI. Los 5 pacientes sin información no fueron incluidos en el análisis.

Las medianas y rangos de la actividad enzimática de ADA en suero y plasma en los pacientes en UCI y S/O se señalan en la Figura 6. Las medianas de la actividad de ADA total en suero y en plasma (Figuras 6A y 6D) y ADA-2 en suero y plasma (Figuras 6B y 6E) en los pacientes en UCI son menores en comparación al grupo no ingresado a UCI, siendo sólo significativa la diferencia en la actividad de ADA-2 medida en suero (Figura 6B), donde la mediana del grupo UCI fue 9,00 U/L con rango 5,5 a 26,25 U/L (20,75) y la mediana del grupo hospitalizados fue 12,5 U/L con rango 2,5 a 133,1 U/L ( $p=0,019$ ).



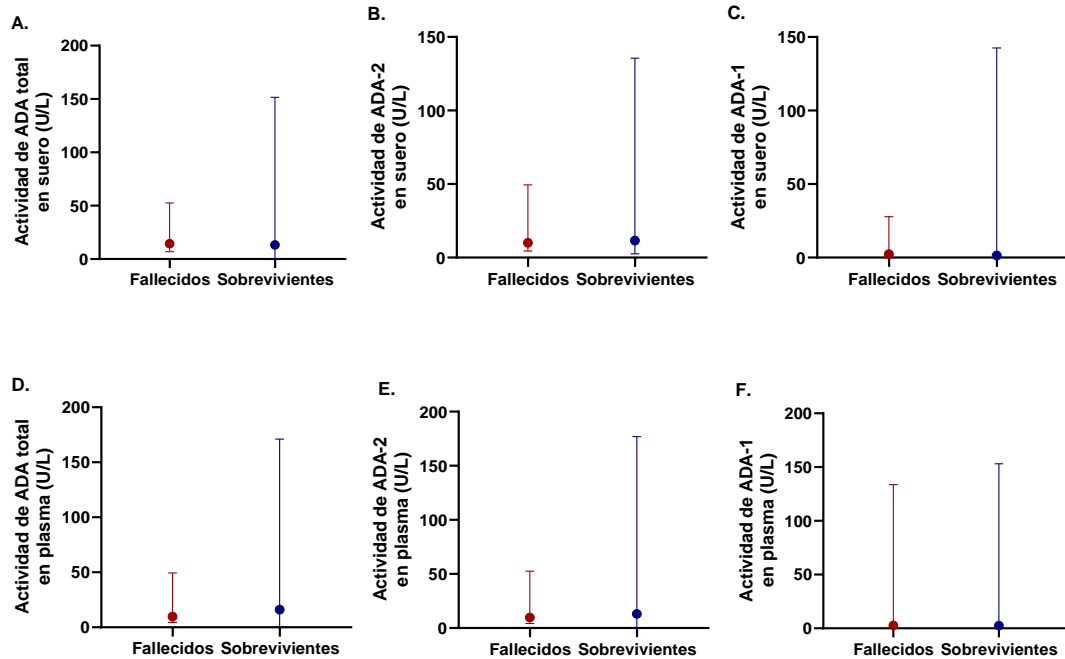
**Figura 6. Actividad de ADA sistémica en 133 adultos con NAC según ingreso a UCI.** Se grafican las medianas y los rangos totales obtenidos de la actividad de ADA en los grupos de estudio (n=133). **A. ADA total en suero:** Mediana (rango): UCI 10,5 U/L (145,0); hospitalizados 14,09 U/L (128,0); p=0,081. **B. ADA-2 en suero:** UCI 9,00 U/L (20,75); hospitalizados 12,5 U/L (131,1); p=0,019. **C. ADA-1 en suero:** UCI 1,88 U/L (142,5); hospitalizados 1,34 U/L (118,0); p=0,91. **D. ADA total en plasma:** UCI 12,5 U/L (156,0); hospitalizados 15,67 U/L (171,0); p=0,16. **E. ADA-2 en plasma:** UCI 10,5 U/L (108,1); hospitalizados 13,42 (176,9); p=0,055. **F. ADA-1 en plasma:** UCI 2,87 U/L (153,0); hospitalizados 2,5 U/L (149,0); p=0,66. Prueba t Mann-Whitney U.



#### **5.3.4. Actividad de ADA sistémica en adultos con NAC fallecidos y sobrevivientes**

Se analizaron muestras de suero y plasma de 129 pacientes, 18 de los cuales fallecieron y 111 sobrevivieron. Se excluyeron los 9 pacientes sin información.

La actividad sistémica de ADA fue similar entre fallecidos y sobrevivientes, tanto en suero como plasma ( $p > 0,4$ ). Las medianas y rangos de la actividad enzimática de ADA en suero y plasma en los pacientes fallecidos y sobrevivientes se señalan en la Figura 7.

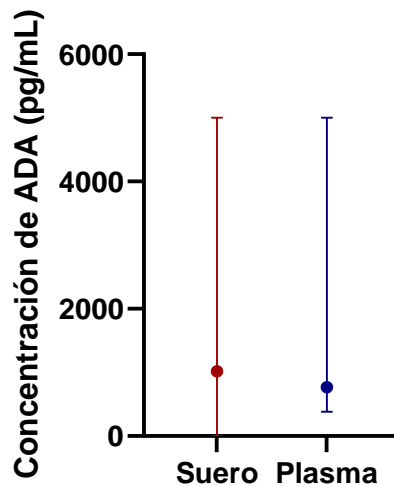


**Figura 7. Actividad de ADA sistémica en pacientes fallecidos y sobrevivientes.** Se grafican las medianas y los rangos totales obtenidos de la actividad de ADA en los grupos de estudio (n=129). **A. ADA total en suero:** Mediana (rango): fallecidos 14,38 U/L (45,62); sobrevivientes 13,33 U/L (151,5); p=0,58. **B. ADA-2 en suero:** fallecidos 10,07 U/L (45,0); sobrevivientes 11,50 U/L (133,1); p= 0,64. **C. ADA-1 en suero:** fallecidos 2,25 U/L (27,78); sobrevivientes 1,43 U/L (142,5), p=0,45. **D. ADA total en plasma:** fallecidos 12,5 U/L (132,6); sobrevivientes 16,0 U/L (171,0); p=0,75. **E. ADA-2 en plasma:** fallecidos 9,75 U/L (48,2); sobrevivientes 13,13 U/L (176,9); p=0,64. **F. ADA-1 en plasma:** fallecidos 2,82 U/L (133,8); sobrevivientes 2,5 U/L (153,0); p=0,43. Prueba t Mann-Whitney U.

#### 5.4. Concentración enzimática de ADA

se cuantificó en suero y plasma de 19 pacientes, previo a la realización de esta tesis. El grupo muestral está compuesto por 12 mujeres y 7 hombres, con una mediana de edad de 69 años, rango entre 37 y 91 años. En todos los pacientes se identificó el agente (42,1% con virus, 42,1% con bacterias y 15,8% con virus y bacterias). El 47,36% (9) eran pacientes graves y requirieron terapia de oxígeno; el 21,07% (4) ingresó la UCI y falleció.

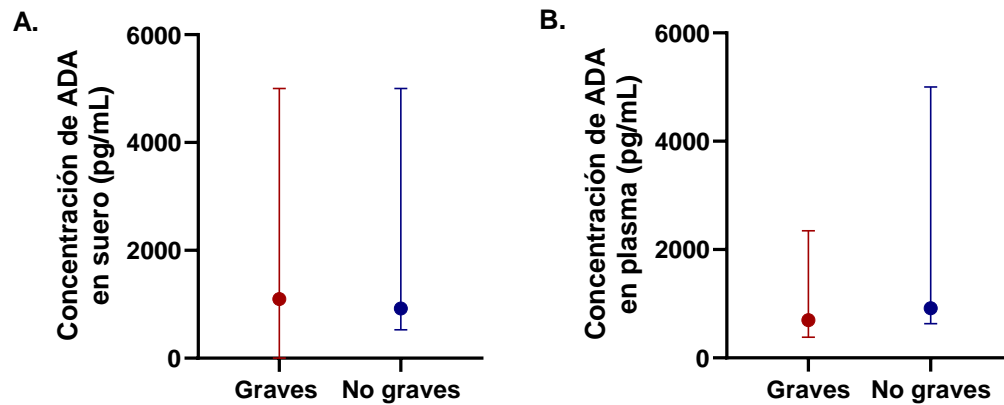
Las medianas de la concentración de ADA en suero y plasma se señalan en la Figura 8. La mediana de la concentración en suero es mayor que la mediana en plasma, con rangos similares. No se obtuvieron resultados estadísticamente significativos.



**Figura 8. Concentración de ADA en suero y plasma de 19 adultos con NAC.** Se grafican las medianas y rangos totales de la concentración enzimática de ADA: 1017 pg/mL (5000) en suero y 765,8 pg/mL (4620) en plasma ( $p= 0,31$ ).

#### 5.4.1. Concentración de ADA en pacientes graves y no graves.

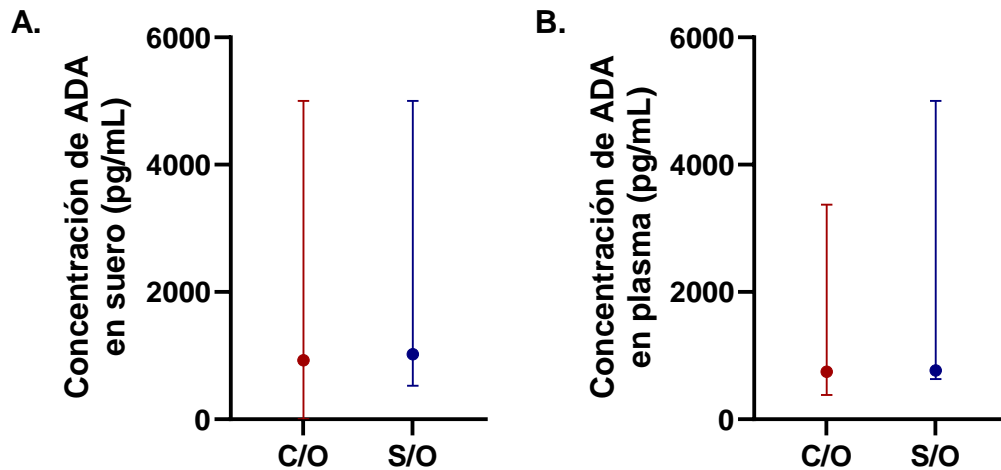
Se analizaron muestras de suero y plasma de 19 adultos con NAC, 9 graves y 10 no graves. Las concentraciones de ADA fueron similares entre pacientes graves y no graves, tanto en suero como en plasma. Las medianas y rangos de la concentración de ADA se señalan en la Figura 9.



**Figura 9. Concentración de ADA en suero y plasma de 9 adultos con NAC graves y 10 no graves.** Se grafican las medianas y rangos totales de la concentración de ADA en los grupos de estudio. **A. ADA en suero:** Mediana (rango): graves 1098 pg/mL (5000), no graves fue 922,4 pg/mL (4722) ( $p=0,55$ ). **B. ADA en plasma:** graves 698,6 (1970), no grave 919,7 pg/mL (4369) ( $p= 0,15$ ).

#### 5.4.2. Concentración de ADA en pacientes con y sin oxigenoterapia

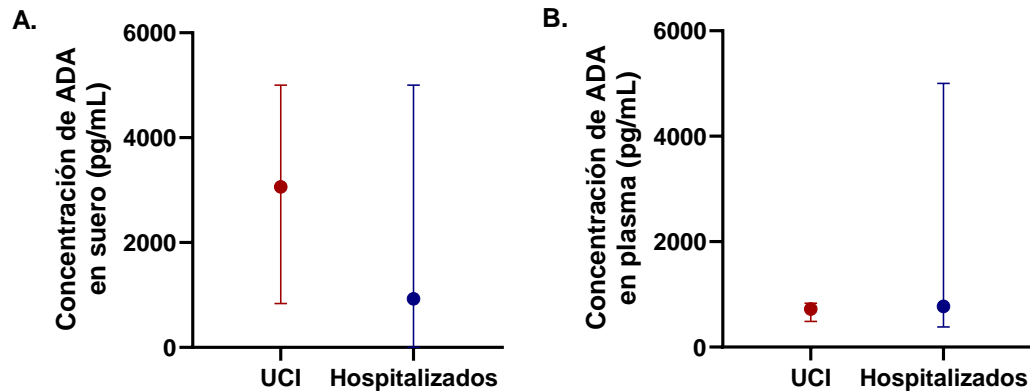
Se analizaron muestras de suero y plasma de 19 adultos con NAC, 9 recibieron oxígeno y 10 pacientes no. Las concentraciones de ADA fueron similares entre pacientes con y sin oxigenoterapia ( $p>0,6$ ). Las medianas y rangos de la concentración de ADA se señalan en la Figura 10.



**Figura 10. Concentración de ADA en 19 adultos con NAC según requerimiento de oxigenoterapia.** Se grafican las medianas y rangos totales de las concentraciones obtenidas en el grupo de estudio: Con oxigenoterapia (C/O), sin oxigenoterapia (S/O). **A. ADA en suero:** Mediana (rango): C/O 927,3 pg/mL (5000), S/O 1022 pg/mL (4472) ( $p=0,90$ ). **B. ADA en plasma:** C/O 747,0 pg/mL (2992), S/O 769,2 pg/mL (4369) ( $p=0,64$ ).

### 5.4.3. Concentración de ADA en 19 adultos con NAC hospitalizados según admisión a UCI

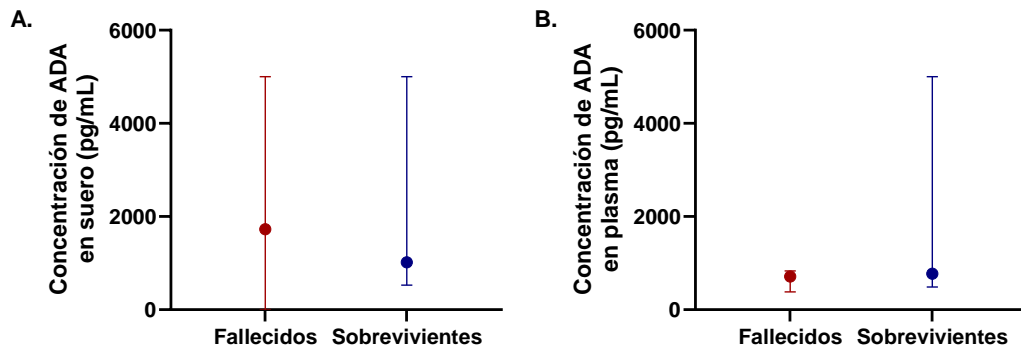
Se analizaron muestras de suero y plasma en 19 adultos con NAC, 4 de ellos ingresaron a la UCI y 15 se hospitalizaron en sala. Las concentraciones de ADA fueron similares entre pacientes ingresados o no a UCI en plasma y aunque en suero fueron mayores en enfermos en UCI, la diferencia no fue significativa ( $p>0,4$ ). Las medianas y rangos de la concentración de ADA se señalan en la Figura 11.



**Figura 11. Concentración de ADA en 19 adultos con NAC según ingreso a la UCI.** Se grafican las medianas y rangos totales obtenidos en el grupo de estudio. **A. ADA en suero:** Mediana (rango); UCI 3062 pg/mL (4162), hospitalizados 927,3 pg/mL (5000) ( $p=0,15$ ). **B. ADA en plasma:** UCI 722,8 pg/mL (345,7); hospitalizados 772,7 pg/mL (4620) ( $p= 0,40$ ).

#### 5.4.4. Concentración de ADA en 19 adultos con NAC según fallecimiento

Se analizaron las mediciones en suero y plasma de la concentración de ADA en 4 pacientes fallecidos y 15 sobrevivientes. Las concentraciones de ADA fueron similares entre fallecidos y sobrevivientes en ambas muestras ( $p > 0,2$ ) (Figura 12).

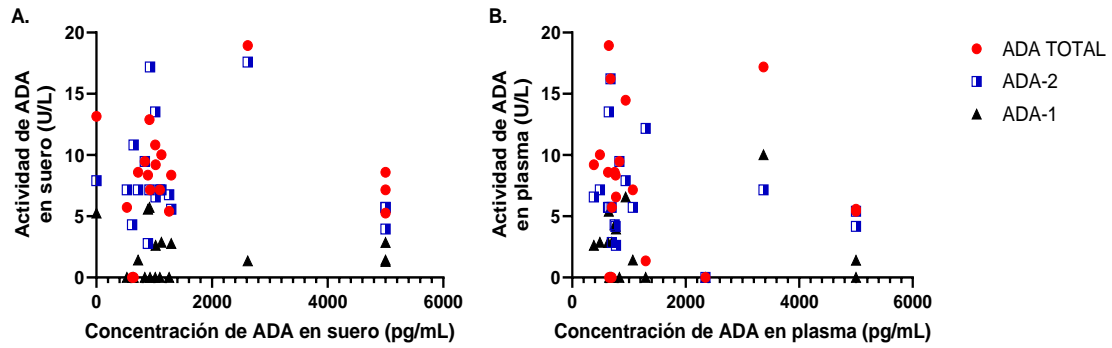


**Figura 12. Concentración de ADA en 4 adultos con NAC fallecidos y 15 sobrevivientes.** Se grafican las medianas y rangos totales de la concentración de ADA obtenido en el grupo de estudio ( $n=19$ ). **A. ADA en suero:** Mediana (rango); fallecidos 1728 pg/mL (5000), sobrevivientes 1017 pg/mL (4472), ( $p= 0,96$ ). **B. ADA en plasma:** fallecidos 710,3 pg/mL (452,6), sobrevivientes 772,7 (4513), ( $p= 0,25$ ).

#### 5.5. Correlación de actividad de ADA sistémica y concentración de ADA en 19 adultos con NAC según gravedad

El análisis se realizó en los 19 pacientes en los cuales se dispuso la determinación de concentración de ADA sistémica en suero y plasma.

Los resultados obtenidos se muestran en la Figura 13. Se observa que el coeficiente  $r$  es cercano a cero y una tendencia hacia el eje Y de las gráficas. No se detectaron diferencias significativas.

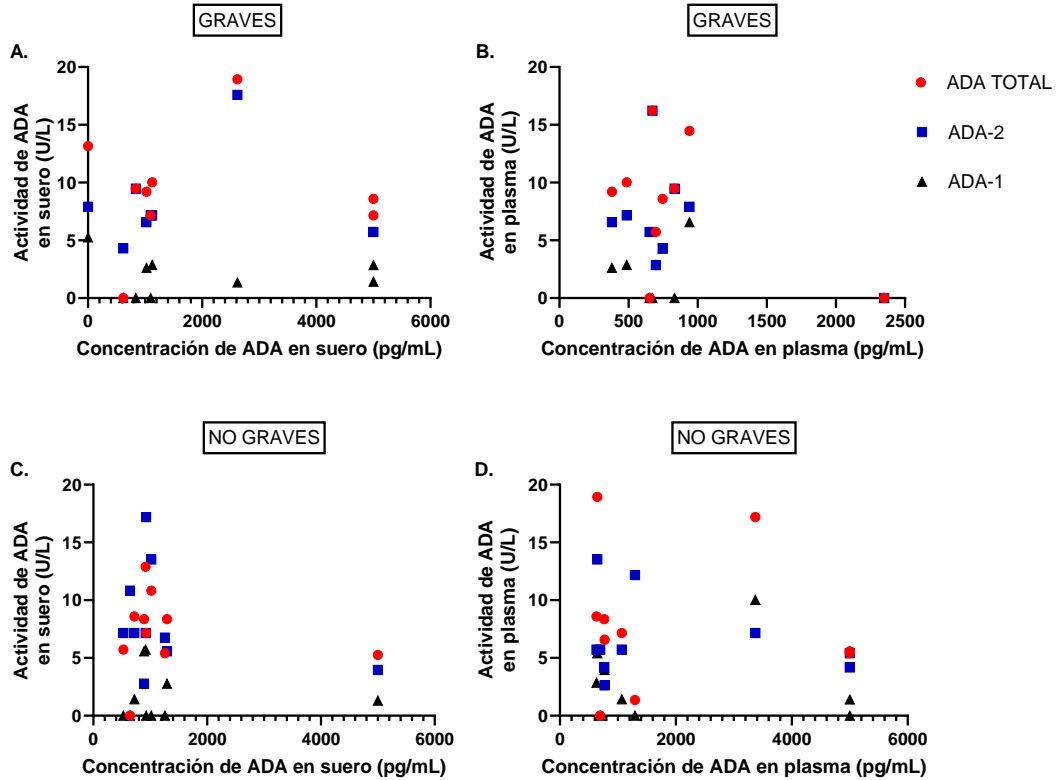


**Figura 13. Actividad de ADA sistémica vs Concentración de ADA en suero y plasma de 19 adultos con NAC. A. Suero:** ADA total  $r=-0,030$ ;  $p=0,90$ ; ADA-2  $r=-0,28$ ;  $p=0,25$ ; ADA-1  $r=0,15$ ;  $p=0,54$ . **B. Plasma:** ADA total  $r=-0,30$ ;  $p=0,22$ ; ADA-2  $r=-0,27$ ;  $p=0,26$ ; ADA-1  $r=-0,12$ ;  $p=0,62$ . Siendo ADA total la determinación de la actividad de ADA sin inhibidor (rojo), ADA-2 la actividad de ADA con inhibidor (azul) y en negro la actividad de ADA-1 (ADA total – ADA-2). Prueba de Spearman r.

### 5.5.1. Correlación de actividad de ADA respecto a la concentración en adultos con NAC graves y no graves

Se analizaron 9 muestras de pacientes con NAC graves y 10 no graves. En la Figura 14 se observan los resultados de las determinaciones de la actividad de ADA total, ADA-2 y ADA-1 con respecto a la concentración de ADA en el mismo paciente. No se detectaron diferencias estadísticamente significativas.



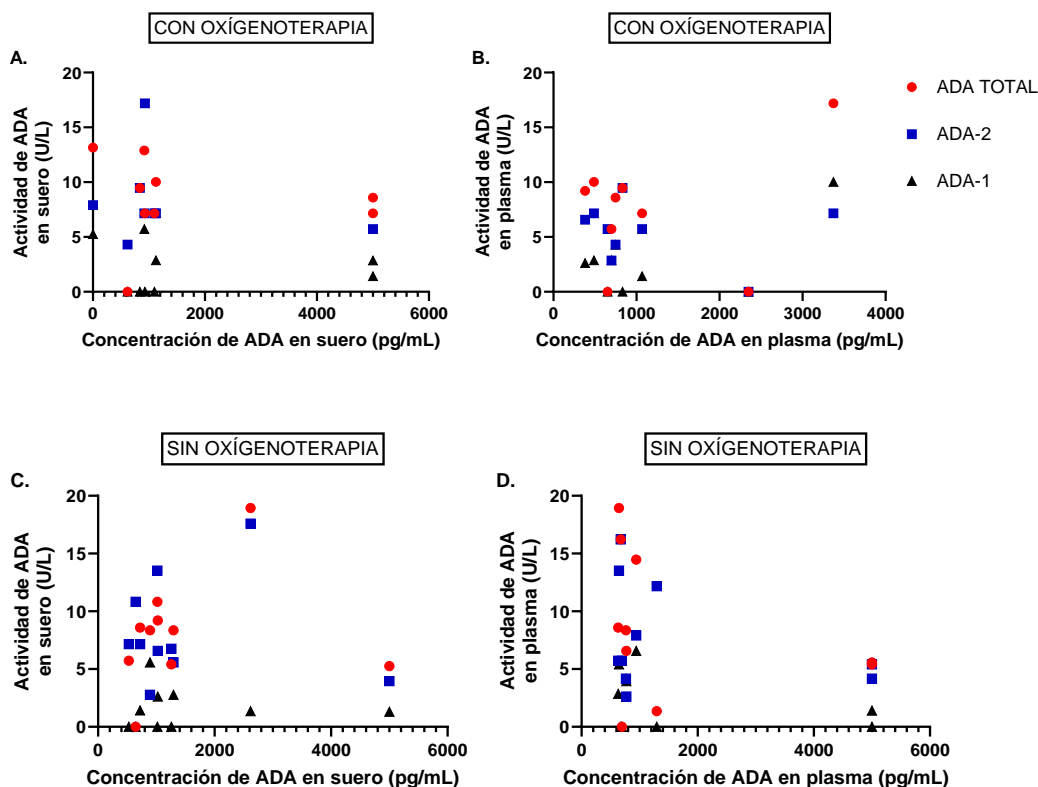


**Figura 14. Actividad de ADA sistémica vs Concentración de ADA en suero y plasma (n=19).** **A. Graves suero:** ADA total  $r=-0,071$ ;  $p=0,85$ ; ADA-2  $r= -0,17$ ;  $p= 0,66$ ; ADA-1  $r= 0,102$ ;  $p= 0,79$ . **B. Graves plasma:** ADA total  $r=-0,12$ ;  $p=0,77$ ; ADA-2  $r= -0,18$ ;  $p= 0,64$ ; ADA-1  $r= 0,052$ ;  $p= 0,90$ . **C. No graves suero:** ADA total  $r=-0,012$ ;  $p=0,98$ ; ADA-2  $r= -0,33$ ;  $p= 0,36$  y para ADA-1  $r= 0,11$ ;  $p= 0,77$ . **D. No graves plasma:** ADA total  $r=-0,36$ ;  $p=0,30$ ; ADA-2  $r= -0,23$ ;  $p= 0,51$ ; ADA-1  $r= -0,302$ ;  $p= 0,39$ .

### 5.5.2. Correlación de la actividad de ADA sistémica con la concentración de ADA en adultos con NAC con y sin oxigenoterapia.

Se analizaron 9 muestras de pacientes con NAC con oxigenoterapia y 10 sin oxígeno. En la Figura 15 se observan los resultados de las determinaciones

de la actividad de ADA con respecto a la concentración de ADA en el mismo paciente. No se detectaron diferencias estadísticamente significativas.

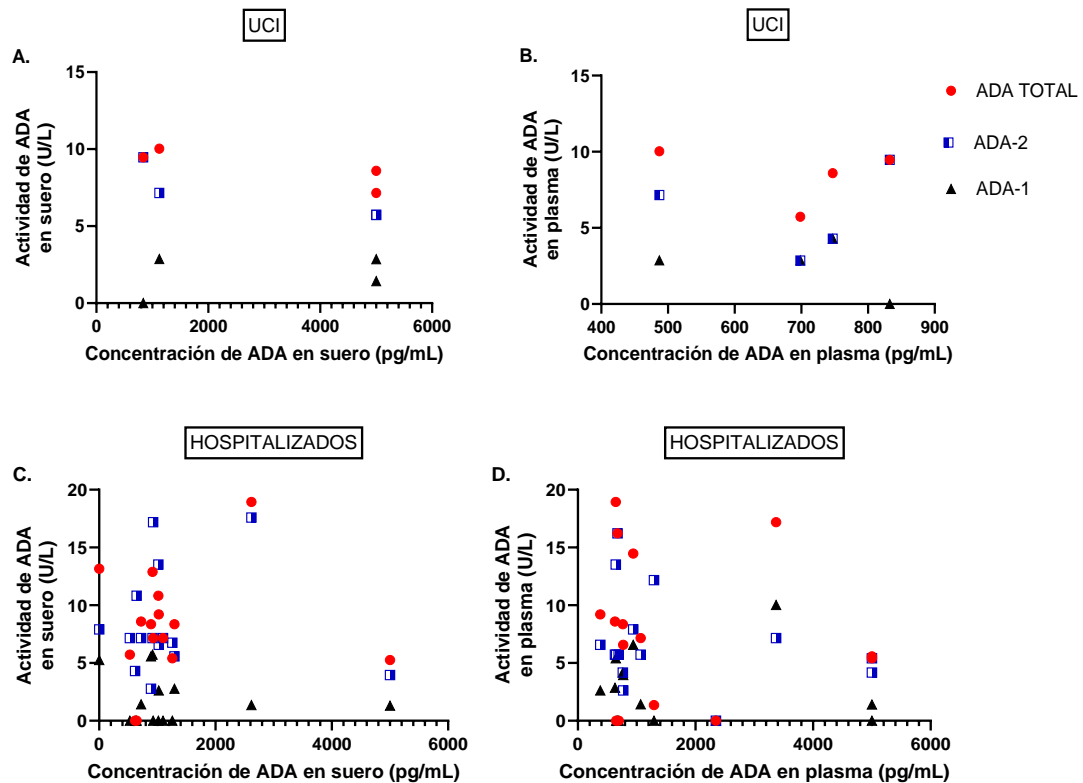


**Figura 15. Actividad de ADA sistémica vs Concentración de ADA en suero y plasma (n=19).** **A. Suero:** ADA total  $r = -0,24$ ;  $p = 0,54$ ; ADA-2  $r = -0,33$ ;  $p = 0,38$ ; ADA-1:  $r = 0,026$ ;  $p = 0,95$ . **B. Plasma:** ADA total  $r = 0,025$ ;  $p = 0,96$ ; ADA-2  $r = -0,11$ ;  $p = 0,78$ ; ADA-1  $r = 0,034$ ;  $p = 0,94$ . **C. Suero:** ADA total  $r = 0,18$ ;  $p = 0,62$ ; ADA-2  $r = -0,22$ ;  $p = 0,53$ ; ADA-1  $r = 0,25$ ;  $p = 0,48$ . **D. Plasma:** ADA total  $r = -0,56$ ;  $p = 0,098$ ; ADA-2  $r = -0,41$ ;  $p = 0,23$ ; ADA-1  $r = -0,22$ ;  $p = 0,53$ .

### 5.5.3. Correlación de la actividad de ADA sistémica con la concentración de ADA según ingreso a UCI

Se analizaron las 4 muestras de pacientes con NAC hospitalizados en UCI y los 15 en sala. En la Figura 16 se observan los resultados de las determinaciones de la

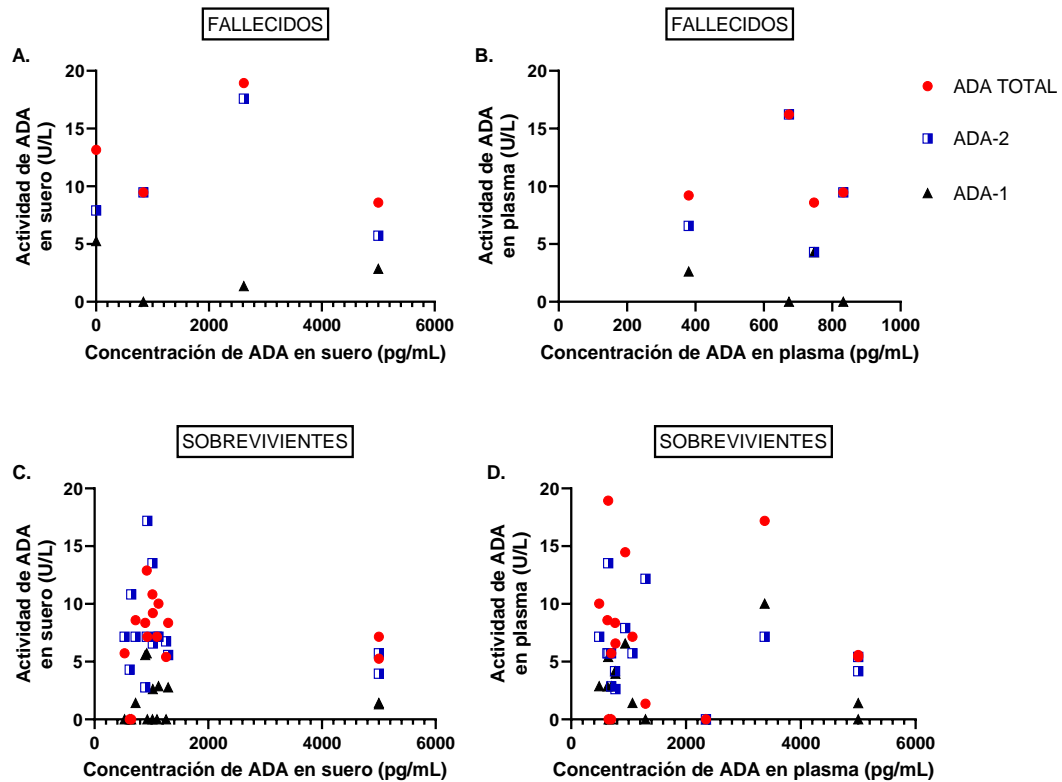
actividad de ADA total, ADA-2 y ADA-1 con respecto a la concentración de ADA en el mismo paciente. No se observan resultados estadísticamente significativos.



**Figura 16. Actividad de ADA sistémica vs Concentración de ADA en suero y plasma (n=19).** **A. UCI suero:** ADA total  $r = -0,74$ ;  $p = 0,33$ ; ADA-2  $r = -1,00$ ;  $p = 0,083$ ; ADA-1  $r = 0,32$ ;  $p = 0,67$ . **B. UCI plasma:** ADA total  $r = -0,20$ ;  $p = 0,92$ ; ADA-2  $r = 0,40$ ;  $p = 0,75$ ; ADA-1  $r = -0,032$ ;  $p > 0,99$ . **C Hospitalizados suero:** ADA total  $r = 0,077$ ;  $p = 0,78$ ; ADA-2  $r = -0,11$ ;  $p = 0,70$ ; ADA-1  $r = 0$ ;  $p > 0,99$ . **D. Hospitalizados plasma:** ADA total  $r = -0,30$ ;  $p = 0,28$ ; ADA-2  $r = -0,35$ ;  $p = 0,19$ ; ADA-1  $r = -0,12$ ;  $p = 0,65$ .

#### 5.5.4. Correlación de la actividad de ADA sistémica con la concentración de ADA en pacientes fallecidos y sobrevivientes.

Se analizaron las 4 muestras de pacientes con NAC fallecidos y de los 15 sobrevivientes. En la Figura 17 se observan los resultados de las determinaciones de la actividad de ADA total, ADA-2 y ADA-1 con respecto a la concentración de ADA en el mismo paciente. No se observan resultados estadísticamente significativos.



**Figura 17. Actividad de ADA sistémica vs Concentración de ADA en suero y plasma (n=19).** **A. Fallecidos suero:** ADA total  $r = -0,40$ ;  $p = 0,75$ ; ADA-2  $r = -0,20$ ;  $p = 0,92$ ; ADA-1  $r = -0,20$ ;  $p = 0,92$ . **B. Fallecidos plasma:** ADA total  $r = 0$ ;  $p > 0,99$ ; ADA-2  $r = 0$ ;  $p > 0,99$ ; ADA-1  $r = -0,22$ ;  $p = 0,83$ . **C. Sobrevivientes suero:** ADA total  $r = 0,12$ ;  $p = 0,68$ ; ADA-2  $r = -0,30$ ;  $p = 0,28$ ; ADA-1  $r = 0,23$ ;  $p = 0,40$ . **D. Sobrevivientes plasma:** ADA total  $r = -0,25$ ;  $p = 0,36$ ; ADA-2  $r = -0,27$ ;  $p = 0,33$ ; ADA-1  $r = -0,18$ ;  $p = 0,52$ .

## 6. Discusión

La actividad de ADA en suero y plasma en adultos con NAC fue similar entre pacientes graves y no graves, independiente del criterio de gravedad aplicado, excepto en la mayor actividad de ADA-1 plasmática en paciente graves según escala FINE (Figura 4F) y una menor actividad de ADA-2 sérica en adultos con NAC ingresados a UCI respecto a los hospitalizados en sala (Figura 6B). En pacientes fallecidos, la actividad enzimática tendió a ser menor, pero sin ser estadísticamente significativa la diferencia. Es posible que estos resultados estén afectados por la desigual proporción de pacientes graves y no graves (67,7% vs 32,3%) por lo que es recomendable aumentar el tamaño muestral del grupo no grave para corroborar si se mantienen los resultados

En condiciones de hipoxia crónica, los niveles de actividad de ADA tienden a aumentar debido a la acumulación y aumento de adenosina extracelular (3,6). Sin embargo, en este estudio no se encontraron diferencias significativas entre pacientes que requirieron oxígeno y los que no. Esto se puede explicar debido a que ninguno de los dos grupos se encontraba en un estado de hipoxia, aun cuando el grupo de pacientes con oxígeno si lo estuvo con anterioridad a la terapia. El oxígeno administrado a los pacientes llega a los tejidos, de forma que detiene el aumento de la adenosina y, por ende, la actividad de ADA disminuye.

La concentración sistémica de ADA también fue similar entre pacientes graves y no graves, independiente del criterio aplicado para clasificar a los enfermos (escala clínica, oxigenoterapia, ingreso a UCI, fallecimiento) y en ambos tipos de muestras. De esta forma, la evolución del paciente no estaría determinada por la concentración de ADA por lo que este parámetro no es útil como biomarcador pronóstico en estos enfermos. Quizás la determinación debiese realizarse a nivel celular.

Tampoco se detectó una correlación entre la actividad y la concentración sistémica de ADA en los pacientes según su gravedad. Sin embargo, se requiere aumentar el número de muestras con cuantificación de ADA para corroborar si este hallazgo se mantiene dado que sólo se pudieron analizar 19 pacientes de los 138 incluidos en este estudio.

En base a los resultados obtenidos, la concentración y los niveles de actividad enzimática en pacientes graves y no graves son similares entre sí. Aun cuando en ensayos previos a esta tesis se determinó una disminución de la expresión del gen de *ada* en adultos con NAC graves, esto no se vio reflejado de manera significativa en la concentración y actividad enzimática de la enzima. No se descarta que se encuentren relacionados, ya que tampoco se realizó una comparación entre la expresión del gen y la concentración detectada en cada paciente analizado, por lo que no podemos relacionarlo directamente. Además, hay que considerar que el tamaño muestral de la determinación de concentración de ADA no es representativo de la población de este estudio y se consideran otras variables como la técnica utilizada para realizar la medición, pudiendo no ser la indicada y que los cambios celulares no se vean reflejados a niveles sistémicos.

En los resultados de este estudio, se destaca que las medianas de actividad de ADA total detectadas no difirieron de los valores que se observan en sanos. Por esto, hay que considerar que, a pesar los amplios rangos observados, existen pacientes que podrían presentar valores que se encuentran dentro de los rangos de referencia y no evidenciarse un aumento o disminución de su actividad.

Es importante mencionar que en el caso de la actividad enzimática de ADA-1, las actividades que dieron un resultado negativo se asumieron como cero (0,00). Estos resultados negativos se deben a que la actividad de ADA total fue menor que la actividad de ADA con inhibidor (isoforma 2 de ADA), estableciendo una diferencia negativa. Esta situación podría atribuirse al coeficiente de variación que presenta la técnica entre las

corridas de las muestras (4,9%), a un mal pipeteo del inhibidor o a la descongelación de las muestras que pudo afectar a la estabilidad de la enzima durante la realización de los ensayos. Podemos descartar en suero el incremento de ADA-2 por alguna otra condición, ya que la enzima se encuentra principalmente en los monocitos y al ser muestras de suero no habría exposición a alguna destrucción celular que pudiera liberar esta isoforma al contrario de lo que podría ocurrir al analizar muestras de plasma que si puede contener células

La actividad y concentración de ADA fue similar en suero y en plasma (Figura 3 y Figura 8), por lo que las mediciones y resultados obtenidos para el análisis no se vieron afectados por el tipo de muestra en la cual se realizó la determinación. Sin embargo, a la hora de realizar la determinación de actividad según la gravedad de pacientes, se pudo ver diferencias entre suero y plasma. En la figura 4, se observa que la actividad de ADA-1 en suero y plasma difieren en sus resultados entre graves y no graves, observándose en suero niveles mayores en no graves (Figura 4C) y en plasma se detectó una mayor actividad enzimática en pacientes graves (Figura 4F). Este resultado podría atribuirse a que también se observa esta diferencia en la actividad de ADA total en ambos tipos de muestras que, a pesar de no ser significativas, nos dan indicios que el tipo de muestra influye en los resultados obtenidos. Sería recomendable utilizar suero, dado que esta permite la separación de los elementos figurados de la sangre de una mejor manera respecto a la muestra de plasma que contiene un *buffy coat* (porción de leucocitos) que podría intervenir en los resultados (31). Esto es importante a la hora de considerar su aplicación en la clínica, ya que la utilización de plasma para determinar la actividad de la enzima presentaría mayores interferencias que la medición el suero.

Además, se realizó el análisis de la actividad de ADA en adultos con NAC según el agente etiológico, obteniendo diferencias altamente significativas (Figura 18, Anexo 4). Se

observa que en el grupo de agentes atípicos (incluyendo virus) y sin detección de agente la actividad es mayor en comparación a los grupos con bacterias típicas o con infecciones mixtas. Este comportamiento se ve en el estudio de Fernández Álvarez R, et. al. (27), en donde se observó el mismo comportamiento en los pacientes con agentes atípicos, por lo que el agente etiológico pudo haber influido en los resultados de la actividad de ADA más que la gravedad del paciente y es un interesante hallazgo que podría considerarse dentro de los estudios de pacientes con NAC.

En un estudio similar sobre la actividad enzimática de ADA y sus isoenzimas (ADA-1 y ADA-2) y diabetes mellitus tipo 2, se demostró que la enzima e isoenzimas aumentan en diabéticos (32), por lo que analizamos nuestros resultados de la actividad de ADA en adultos con NAC con y sin diabetes, obteniendo diferencias significativas solamente al medir ADA-1 en suero (Figura 19, Anexo 5). En este resultado, se obtuvo una actividad menor en los pacientes con diabetes, lo que es contrario a lo observado en el estudio citado. Sin embargo, hay que considerar que las condiciones de inclusión y exclusión de pacientes no fueron las mismas para este estudio, además que otras comorbilidades pueden influir en los resultados, como la hipertensión, asma, entre otros; y también el tipo de diabetes mellitus que tenga el paciente. De igual manera, se ha descrito en hepatopatías, hipoxia crónica, hipertensión y otros cuadros un aumento de la actividad de ADA (2,3,6,7,11,12). Teniendo en consideración que en el grupo muestral de esta tesis el 94,2% de los pacientes presentaba algún tipo de comorbilidad, esto pudo haber afectado los niveles detectados de la enzima y causado interferencia en los resultados.

Para finalizar, sería relevante aumentar el tamaño muestral de la determinación de la concentración de la ADA total y sus isoformas en pacientes con NAC graves y no graves, para confirmar si esta enzima no es útil como un biomarcador de gravedad en adultos con NAC. y, continuar con la búsqueda de nuevos biomarcadores.



En base a los resultados obtenidos, se rechaza la hipótesis planteada en esta tesis, porque la actividad enzimática y la concentración de ADA sistémicas no difieren según gravedad en adultos con NAC. Así mismo, se puede observar que el tipo de muestra puede influir en los resultados obtenidos de actividad enzimática dadas las diferencias entre graves y no graves en la actividad de ADA total y la isoforma ADA-1.

## **7. Conclusiones**

- a) Los niveles de actividad sérica y plasmática de ADA total y de ADA-2 no difieren según la gravedad en los adultos con NAC, definida por escala Fine, oxigenoterapia o fallecimiento.
- b) Los niveles de actividad sistémica de ADA-1 son superiores en adultos con NAC graves respecto a los no graves, en suero y plasma.
- c) Los niveles de actividad sistémica de ADA son similares entre pacientes con y sin admisión a la UCI en suero y plasma, excepto los menores niveles séricos de ADA-2 en los admitidos a la UCI.
- d) Los niveles de actividad sistémica de ADA son similares entre muestras de plasma y suero de adultos con NAC.
- e) La concentración sérica y plasmática de ADA no difiere según la gravedad de los adultos con NAC.
- f) La actividad sistémica de la enzima ADA no se correlaciona con la concentración de ADA en suero ni plasma de adultos con NAC en este estudio.

## Anexos

**ANEXO 1:** Índice de Severidad de Neumonía (PSI). Variables y puntuación para la clasificación de gravedad de la Neumonía (24).

Características		Puntuación	
Edad: hombres		Número de años	
Edad: Mujeres		Número de años -10	
Asilo o residencias		+ 10	
Enfermedad neoplásica		+ 30	
Enfermedad hepática		+ 20	
Insuficiencia cardiaca congestiva		+ 10	
Enfermedad cerebrovascular		+ 10	
Enfermedad renal		+ 10	
Estado mental alterado		+ 20	
Frecuencia respiratoria >30 x minuto		+ 20	
Presión arterial sistólica < 90 mmHg		+ 20	
Temperatura <35°C o >40°C		+ 15	
Pulso > 125 x minuto		+ 10	
pH arterial <7,35		+ 30	
Nitrógeno ureico en sangre >30 mg/dl		+ 20	
Na <130 nmol/l		+ 20	
Glucosa >250 mg/dl		+ 10	
Hematocrito <30%		+ 10	
PaO <sub>2</sub> <60 mmHg		+ 10	
Derrame pleural		+ 10	
Clase de Riesgo Fine	Puntuación	Muerte 30 días (%)	
<b>BAJO RIESGO</b>	Clase I	Si <50 años y sin neoplasia, ni insuficiencia cardiaca, enfermedad cerebrovascular, enfermedad hepática o renal.	0,1
	Clase II	< 70	0,6
	Clase III	71 - 90	0,9 - 2,8
	Clase IV	91 - 130	8,2 - 9,3
<b>ALTO RIESGO</b>	Clase V	> 130	27 - 29,2

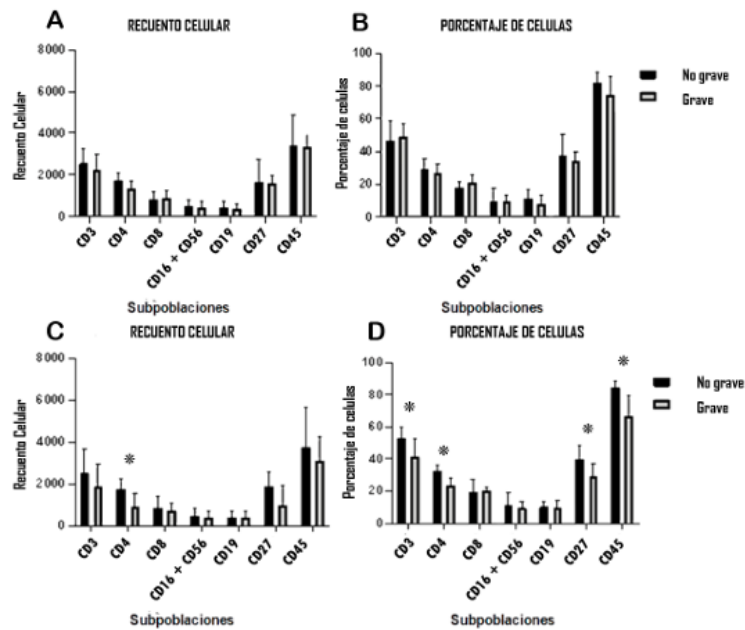
Fuente: Carpio-Deheza, G. & Céspedes-Vargas, J. 2013. Neumonía adquirida en la comunidad: estudio inicial de la validación de una escala pronóstica para su empleo en emergencias del Hospital Clínico.

**ANEXO 2:** Escala CURB-56. Variables y puntuación para la clasificación de la Neumonía (24).

Descripción		Puntuación			
<b>C</b>	Confusión. Desorientación temporo-espacial	1			
<b>U</b>	Urea sérica > 7 mmol/l	1			
<b>R</b>	Frecuencia Respiratoria (Respiratory Rate) $\geq$ 30 x minuto	1			
<b>B</b>	Hipotensión arterial (Low Blood Pressure) Presión arterial diastólica $\leq$ 60 mmHg o Presión arterial sistólica < 90 mmHg.	1			
<b>65</b>	Edad $\geq$ 65 años	1			
GRUPOS DE RIESGO					
Puntuación CURB-65	Mortalidad	Sitio de atención	Puntuación CRB-65	Mortalidad	Tratamiento recomendado
0	0,7%	Ambulatorio	0	1,2%	Ambulatorio
1	2,1%	Ambulatorio	1 - 2	8,5%	Ingreso
2	9,2%	Considerar ingreso	3 - 4	31%	Ingreso Considerar UCI
3	14,5%	Ingreso			
4 - 5	40%	Ingreso Considerar UCI			

Fuente: Carpio-Deheza, G. & Céspedes-Vargas, J. 2013. Neumonía adquirida en la comunidad: estudio inicial de la validación de una escala pronóstica para su empleo en emergencias del Hospital Clínico.

**ANEXO 3:** Cuantificación de subpoblaciones linfocitarias de adultos con NAC grave y no grave según escalas PSI y CURB65 (27).

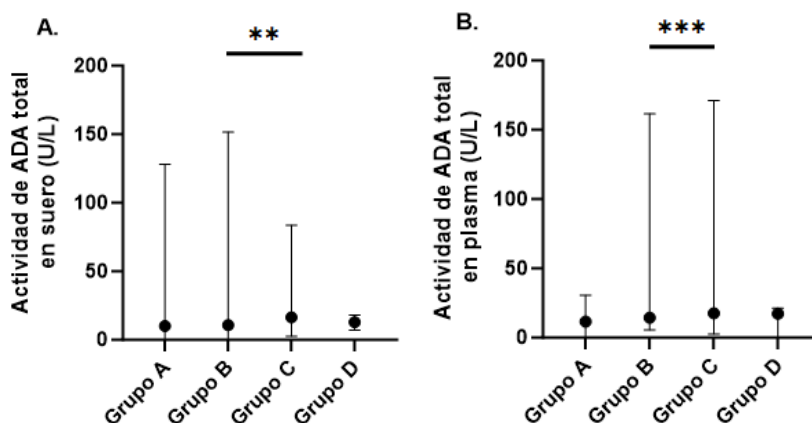


Fuente: Moya, D. Cuantificación de subpoblaciones linfocitarias en adultos con neumonía adquirida en la comunidad grave y no grave. 2021.

**ANEXO 4: Actividad de ADA según el agente etiológico de NAC.** Se analizaron 137 muestras de pacientes de los cuales se tenía información del agente etiológico causante de la infección, con mediana de 70 años con rango de 22 a 95 años. Se excluyó un paciente del que no se tenía información.

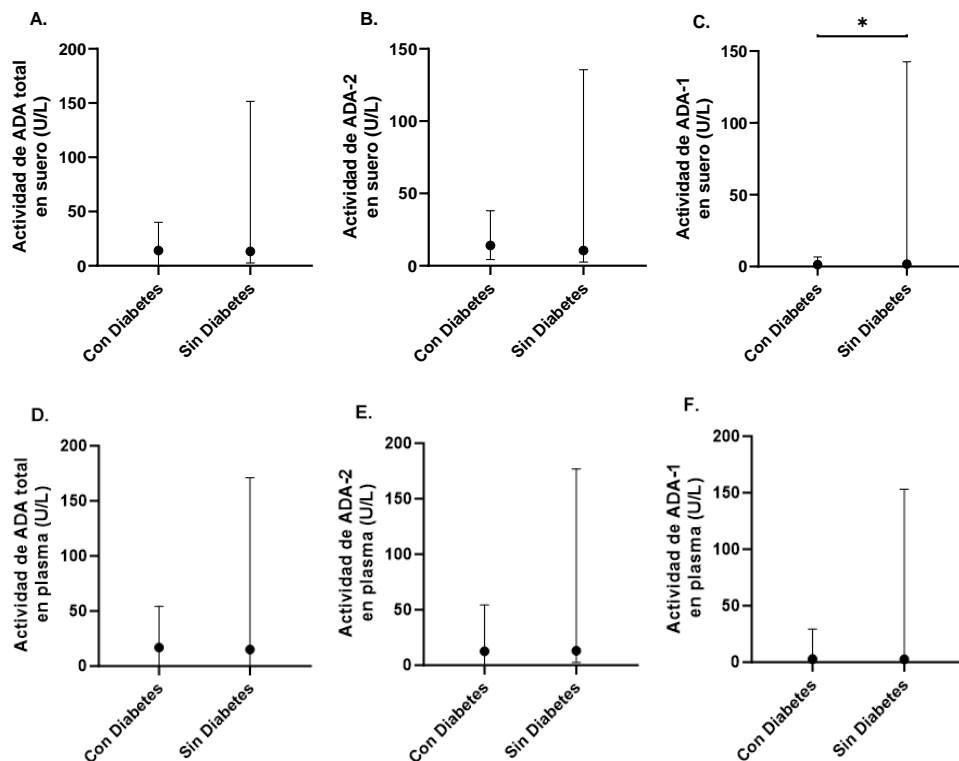
**Tabla 5.** Agrupación según agente etiológico.

Grupo A (n=17)	Grupo B (n=31)	Grupo C (n=80)	Grupo D (n=9)
Agente etiológico típico ( <i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Staphylococcus spp.</i> , bacilos gram negativos).	Agente etiológico atípico ( <i>Mycoplasma pneumoniae</i> , <i>Legionella pneumophila</i> , <i>Chlamydia spp.</i> , virus y hongos).	Sin agente etiológico detectado.	Infección mixta (viral y bacteriana).



**Figura 18. Actividad de ADA total en adultos con NAC según agente etiológico (n=137).** Se grafican las medianas y rangos totales de los grupos estudiados. Mediana (rango): **A. Suero:** grupo A 10,0 U/L (128); grupo B 10,67 U/L (151,5); grupo C 16,34 U/L (81,0); grupo D 12,89 U/L (11,13); p= 0,0016 **B. Plasma:** grupo A 11,5 U/L (30,63); grupo B 14,48 U/L (156,0); grupo C 17,57 U/L (168,5); grupo D 17,19 U/L (21,25); p= 0,0007.

**ANEXO 5: Actividad de ADA en pacientes con Diabetes Mellitus.** Se grafican las medianas de las actividades de ADA de 38 pacientes con Diabetes Mellitus y 94 pacientes sin diabetes. Se excluyeron 6 pacientes sin información. Se obtuvieron resultados significativos al medir la actividad de ADA-1 sérica (Figura 19C) en pacientes con diabetes, encontrando niveles menores de la enzima en comparación de los pacientes sin diabetes.



**Figura 19. Actividad de ADA en suero en pacientes con y sin diabetes mellitus (n=132).** Mediana (rango). **A. ADA total suero:** con diabetes 14,09 U/L (40,00); sin diabetes 13,33 U/L (149,0); p=0,28. **B. ADA-2 suero:** con diabetes 14,00 U/L (33,70); sin diabetes 10,57 U/L (133,1); p=0,77. **C. ADA-1 suero:** con diabetes 1,25 U/L (6,67); sin diabetes 1,66 (142,5); p= 0,04. **D. ADA total plasma:** con diabetes 16,94 U/L (54,38); sin diabetes 15,0 U/L (171,0); p= 0,80. **E. ADA-2 plasma:** con diabetes 12,59 U/L (54,38); sin diabetes 13,13 U/L (174,3); p= 0,99. **F. ADA-1 plasma:** con diabetes 2,77 U/L (29,38); sin diabetes 2,5 U/L (153,0); p= 0,14.

## Bibliografía

1. Tintos-Hernández Jesús Alonso, Dávalos-Rodríguez Ingrid Patricia. Deficiencia de Adenosina Deaminasa (ADA): Aspectos clínicos, bioquímicos, moleculares y de tratamiento. *Revista de Investigación Clínica* 2011;63(1):75-83.
2. Bagheri, S., Saboury, A. A., & Haertlé, T. (2019). *Adenosine deaminase inhibition. International Journal of Biological Macromolecules*. doi:10.1016/j.ijbiomac.2019.09.078.
3. Pérez-Aguilar Mary Carmen, Goncalves Loredana, Ibarra Alba, Bonfante-Cabarcas Rafael. Adenosin deaminasa como molécula coestimuladora y marcador de inmunidad celular. *Invest. clín.* 2010;51(4):561-571.
4. Coitinho Cecilia, San Martín Rosario, Mier Cristina, Rodríguez Roxana, Zunino Torres Silvia, Rivas Carlos. Utilidad de la dosificación de adenosin deaminasa en el diagnóstico de la tuberculosis pleural: Primera experiencia nacional. *Rev. Méd. Urug.* 2007;23(1): 19-24.
5. Flinn, A.M., Gennery, A.R. Adenosine deaminase deficiency: a review. *Orphanet J Rare Dis* 13, 65 (2018). doi:10.1186/s13023-018-0807-5
6. Pérez-Aguilar Mary Carmen, Goncalves Loredana, Bonfante-Cabarcas Rafael. Adenosin deaminasa en el síndrome de inmunodeficiencia combinada severa. *Invest. clín.* 2012;53(3): 315-324.
7. Salmanzadeh S, Tavakkol H, Bavieh K, Alavi SM. Diagnostic Value of Serum Adenosine Deaminase (ADA) Level for Pulmonary Tuberculosis. *Jundishapur J Microbiol.* 2015;8(3).
8. Saavedra JS., Urrego S., Pérez A., Toro ME. Diagnóstico de meningitis tuberculosa. *Acta Neurol Colomb.* 2015;31(2):223-230.
9. Maite Oyonarte W. Enfoque diagnóstico en el paciente con derrame pleural. *REV. MED. CLIN. CONDES.* 2015;26(3):313-324.
10. Kalkan A, Bulut V, Erel O, Avci S, Bingol NK. Adenosine deaminase and guanosine deaminase activities in sera of patients with viral hepatitis. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1999 May-Jun;94(3):383-6. doi: 10.1590/s0074-02761999000300018. PMID: 10348987.
11. Utilidad clínica de la determinación de Adenosin-desaminasa sérica en varia hepatopatía, conectivopatías y hemopatías crónicas. [Antonio Eduardo Delgado Martín]. 2003.
12. Shivananda Nayak B, Mohammed N, Ramnanansingh TG, Nayak AS. Determination of Adenosine Deaminase Levels in Patients With and Without Community Acquired Pneumonia - A Trinidadian Study. *Endocrinol. Diabetes Res.* 2018;4:2.
13. Martínez-Vernaza Samuel, Mckinley Estefanía, Soto María Juliana, Gualtero Sandra. Neumonía adquirida en la comunidad: una revisión narrativa. *Univ. Med.* [Internet]. 2018 Dec [cited 2023 Oct 09]; 59( 4 ): 93-102. Available from: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2011-08392018000400093&Ing=en](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2011-08392018000400093&Ing=en). <https://doi.org/10.11144/javeriana.umed59-4.neum>.
14. Ministerio de Salud (MINSAL). (2012). Guía Clínica AUGE: Neumonía adquirida en la comunidad en adultos de 65 años y más de manejo ambulatorio.
15. Falguera, M., & Ramírez, M. F. (2015). Neumonía adquirida en la comunidad.

- Revista Clínica Española, 215(8), 458–467. doi:10.1016/j.rce.2015.06.002
16. Lopardo Gustavo, Basombrío Adriana, Clara Liliana, Desse Javier, De Vedia Lautaro, Di Libero Eugenia et al . Neumonía adquirida de la comunidad en adultos: Recomendaciones sobre su atención. Medicina (B. Aires) [Internet]. 2015 Ago [citado 2023 Oct 14] ; 75( 4 ): 245-257. Disponible en: [http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0025-76802015000400011&lng=es](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0025-76802015000400011&lng=es).
  17. Neumonía Adquirida en la Comunidad de manejo ambulatorio en Mayores de 65 años. DIPRECE. 2021.
  18. Luchsinger, V. et. al. Community-acquired pneumonia in Chile: the clinical relevance in the detection of viruses and atypical bacteria. Thorax. 2013;68:1000-1006.
  19. Ampuero, S. et. al. IL-7/IL7R axis dysfunction in adults with severe community-acquired pneumonia (CAP): a cross-sectional study. Nature. 2022;12:13145.
  20. Luchsinger, V. et. al. Immunoglobulins concentration and B cell counts as severity markers in adult community-acquired pneumonia: cross sectional study. Medicine. 2020;99:45.
  21. Zapata Mata, M., Borja Torres, R., Martínez Lozano, M., Gozzing Vidal, R. (2018). Escala *FINE* y CURB-65 como recurso predictivo de mortalidad en pacientes con neumonía intrahospitalaria. Revista Científica Mundo de la Investigación y el Conocimiento. 3(2):432-448, abril, 2019. <https://www.recimundo.com/index.php/es/article/view/455/669>
  22. Blanquer, J., & Sanz, F. (2010). Neumonía adquirida en la comunidad. Archivos de Bronconeumología, 46, 26–30. doi:10.1016/s0300-2896(10)70043-0
  23. Luchsinger, V. et. al. Immunoglobulins concentration and B cell counts as severity markers in adult community-acquired pneumonia: cross sectional study. Medicine. 2020;99:45.
  24. Mandell LA, Wunderink RG, Anzueto A, Bartlett JG, Campbell GD, Dean NC, Dowell SF, File TM Jr, Musher DM, Niederman MS, Torres A, Whitney CG; Infectious Diseases Society of America; American Thoracic Society. Infectious Diseases Society of America/American Thoracic Society consensus guidelines on the management of community-acquired pneumonia in adults. Clin Infect Dis. 2007;44 Suppl 2(Suppl 2):S27-72.
  25. Carpio-Deheza, G. & Céspedes-Vargas, J. Neumonía adquirida en la comunidad: estudio inicial de la validación de una escala pronóstica para su empleo en emergencias del Hospital Clínico. Revista Médico-Científica "Luz y Vida". 2013;4(1):17-23
  26. Muñoz Paulina, Garmendia M. Luisa, Ruiz Mauricio, Pizarro Rolando, Rossi Patricio, Prades Yara et al . Rendimiento de dos índices predictores de mortalidad (PSI y CURB-65) en pacientes adultos inmunocompetentes hospitalizados por neumonía adquirida en la comunidad. Rev. méd. Chile [Internet]. 2021 Sep [citado 2023 Dic 03] ; 149( 9 ): 1275-1284. Disponible en: [http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-98872021000901275&lng=es](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-98872021000901275&lng=es). <http://dx.doi.org/10.4067/S0034-98872021000901275>.



27. Fernández Álvarez R, Molinos Martín L, Gullón Blanco JA, Rubinos Cuadrado G, Jiménez A, Martínez González-Río J. Neumonía adquirida en la comunidad: adenosindesaminasa plasmática como marcador etiológico. *Med Clin (Barc)*. 2002;119(13):481–4.
28. Cuantificación de subpoblaciones linfocitarias en adultos con neumonía adquirida en la comunidad grave y no grave [Daniel Alfredo Moya Oyola]. Universidad de Chile; 2021.
29. Adenosine Deaminase Assay. Diazyme Labs®.
30. Human ADA (Adenosine Deaminase). Novus Biologicals®.
31. Ministerio de Salud. Norma General Técnica N°155. Estándares para obtención de componentes sanguíneos y gestión de inventario o stock. 2013. <https://www.minsal.cl/wp-content/uploads/2023/07/Res-Ex-N%C2%B0-923-27.09.13-Aprueba-NGT-N%C2%B0155-Estandares-para-la-obtencion-de-componentes-sanguineos-y-gestion-de-inventario.pdf>
32. Sapkota LB, Thapa S, Subedi N. Correlation study of adenosine deaminase and its isoenzymes in type 2 diabetes mellitus. *BMJ Open Diabetes Research and Care* 2017;5:e000357. doi: 10.1136/bmjdr-2016-000357

Santiago, 18 de enero de 2024

## ACTA CURSO TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

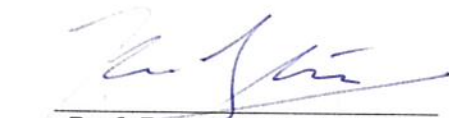
La **Srta. Javiera Valentina Rubilar Retamal**, estudiante de Tecnología Médica con Mención en Bioanálisis Clínico Molecular, Hematología y Medicina Transfusional, cumpliendo con los requisitos establecidos en el plan de estudio, realizó durante el decimo semestre de la carrera, la Tesis Profesional titulada: "**CUANTIFICACIÓN DE ADENOSIN DEAMINASA (ADA) EN ADULTOS INMUNOCOMPETENTES CON NEUMONÍA ADQUIRIDA EN LA COMUNIDAD (NAC)**", dirigida por la **Dra. Vivian Luchsinger Farías**, académica Laboratorio De Virus Respiratorios del Programa de Virología Instituto de Ciencias Biomédicas (ICBM), Universidad de Chile.

La Escuela de Tecnología Médica designó para su corrección una Comisión integrada por la: **Dra. Sandra Ampuero**, académica Programa de Virología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile y la **Dra. Rosana Muñoz Videla**, académica del Departamento de Tecnología Médica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

La calificación obtenida se detalla a continuación:

Corrector 1 <b>Dra. Sandra Ampuero</b>	6.77	25%
Corrector 2 <b>Dra. Rosana Muñoz Videla</b>	6.61	25%
Tutor(es) Guía:		
Evaluación intermedia	7.00	25%
Nota final tutor	7.00	25%
Nota final tesis profesional	<b>6.85</b>	

En consecuencia la estudiante **Javiera Valentina Rubilar Retamal** aprueba satisfactoriamente la asignatura.



**Prof. Rosana Muñoz Videla**  
Coordinador(a) curso  
Trabajo de Investigación



HERNAN RODRIGO  
TORRES RIVERA  
15.932.579-2  
24/01/2024 - 12:33  
ESTE DOCUMENTO CONTIENE FIRMA ELECTRÓNICA AVANZADA  
<https://ceropapel.uchile.cl/validacion/verificador>  
CV: b6tzsfat9ejaddkobb3mb7rr

**Prof. Hernán Torres.**  
PEC curso  
Trabajo de Investigación