

Autor/Autora:

Cristina Ghadban Garrido

Director/a/es/as:

Dr. Carlos Antonio Amado Diago

Tesis Doctoral

CARACTERIZACIÓN DE NUEVOS BIOMARCADORES SÉRICOS DE FERROPTOSIS EN PACIENTES CON EPOC. IMPLICACIONES FISIOPATOLÓGICAS Y PRONÓSTICAS



A mis padres,
por su amor incondicional.

A mi hermana,
por caminar siempre juntas, de la mano.

A Saúl,
por haber sido el motor de este trabajo
y de tantas otras cosas.

No podría imaginarme esto sin vosotros.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Carlos Amado, mi director de tesis, por confiar desde el primer momento en mí y proponerme esta aventura. Por su apoyo constante, aún en la distancia, por su dedicación y cariño hacia la profesión, y por contagiarlo a todo aquel que tiene la suerte de trabajar con él.

A Ana Berja, Paula Martín y Nieves Aranda, por su incalculable ayuda y apoyo durante este proyecto. Gracias por compartir vuestro tiempo y experiencia de manera desinteresada.

A mis compañeros del servicio de neumología del Hospital Universitario Marqués de Valdecilla, en especial al grupo de asma grave y EPOC, por haberme acompañado durante estos años y mostrarme lo maravillosa que puede ser esta especialidad.

Y, por último, al Hospital Universitario Marqués de Valdecilla y a IDIVAL, por facilitar los medios para la ejecución de este trabajo.

Muchas gracias a todos.

ÍNDICE

1.	INTRODUCCIÓN	1
1.1.	LA EPOC	1
1.1.1.	ETIOLOGÍA	1
1.1.2.	FACTORES DE RIESGO.....	1
1.1.2.1.	Tabaco	2
1.1.2.2.	EPOC en no fumadores.....	3
1.1.2.3.	Genética	3
1.1.2.4.	Biomasa y exposiciones ocupacionales.....	3
1.1.3.	DIAGNÓSTICO.....	4
1.1.4.	CLÍNICA	6
1.1.4.1.	Bronquitis crónica	6
1.1.4.2.	Enfisema	6
1.1.4.3.	Disnea.....	7
1.1.4.4.	Cuestionarios de calidad de vida.....	7
1.1.4.5.	Exacerbaciones.....	8
1.1.5.	CLASIFICACIÓN	10
1.1.6.	PRONÓSTICO	14
1.1.6.1.	Espirometría	14
1.1.6.2.	Test de la marcha de 6 minutos	15
1.1.6.3.	Estado nutricional.....	15
1.1.6.4.	Disfunción muscular medida por el índice de masa libre de grasa	16
1.1.6.5.	Índice BODE e índice BODEx.....	17
1.1.7.	COMORBILIDADES	19
1.1.8.	TRATAMIENTO.....	19
1.1.8.1.	Tratamiento farmacológico.....	20
1.1.8.2.	Tratamiento no farmacológico.....	24
1.1.9.	BIOMARCADORES.....	25
1.1.9.1.	Patogénesis molecular de la EPOC.....	26
1.1.9.2.	Biomarcadores moleculares.....	29
1.1.9.3.	Biomarcadores en las agudizaciones de EPOC.....	30
1.2.	DÉFICIT DE HIERRO SIN ANEMIA	32
1.3.	FERROPTOSIS Y EPOC	35
1.3.1.	LA FERROPTOSIS: DEFINICIÓN.....	35

1.3.2. MECANISMO BIOQUÍMICO	36
1.3.2.1. Reguladores transcripcionales y ferroptosis	39
1.3.3. FERROPTOSIS Y EPOC	42
1.3.3.1. Estrés oxidativo y metabolismo del hierro en la ferroptosis pulmonar.....	43
1.3.3.2. Peroxidación lipídica y daño celular.....	44
1.3.3.3. Regulación de la ferroptosis en la EPOC	44
1.3.3.4. Evidencia experimental sobre el papel de la ferroptosis en la EPOC.....	45
1.3.4. FERROPTOSIS E INFECCIONES RESPIRATORIAS	46
1.3.5. MOLÉCULAS IMPLICADAS EN LA FERROPTOSIS	48
1.3.5.1. Acil-CoA sintetasa de cadena larga tipo 4 (ACSL4).....	49
1.3.5.2. Receptor soluble de transferrina-1 (sTfR1).....	50
1.3.5.3. Glutatión peroxidasa 4 (GPX4)	52
1.3.5.4. Factor inductor de apoptosis mitocondrial 2 (AIFM2)	54
2. HIPÓTESIS	57
3. OBJETIVOS	59
3.1. OBJETIVO PRINCIPAL	59
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	59
4. MATERIAL Y MÉTODOS	61
4.1. DISEÑO DEL ESTUDIO	61
4.2. PARTICIPANTES.....	61
4.2.1. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN.....	61
4.3. VARIABLES RECOGIDAS	63
4.4. DETERMINACIONES ANALÍTICAS	65
4.4.1. DETERMINACIONES BÁSICAS	65
4.4.1.1. Albúmina	66
4.4.1.2. Creatinina	66
4.4.1.3. Ácido úrico.....	66
4.4.1.4. CK.....	67
4.4.1.5. Hemoglobina	67
4.4.1.6. Hierro.....	67
4.4.1.7. Ferritina	67
4.4.1.8. Transferrina	68
4.4.1.9. Índice de saturación de transferrina	68
4.4.2. DETERMINACIONES DE LAS MOLÉCULAS DE ESTUDIO	68
4.4.2.1. Determinaciones de ACSL4, sTfR1 y GPX4	69
4.4.2.2. Determinación de AIFM2/FSP1	70

4.5.	PROCESAMIENTO DE DATOS Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	71
5.	RESULTADOS	73
5.1.	CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES Y CONTROLES	73
5.2.	COMPARACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES SÉRICAS DE LAS MIRFP ENTRE GRUPOS	75
5.3.	ASOCIACIÓN ENTRE LAS MIRFP Y LAS CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE LA EPOC	77
5.5.	MOLÉCULAS DE FERROPTOSIS COMO PREDICTORES DE DESATURACIÓN DE OXÍGENO DURANTE EL EJERCICIO.....	87
5.6.	MOLÉCULAS DE FERROPTOSIS COMO PREDICTORES DE EXACERBACIÓN MODERADA.....	89
5.7.	MOLÉCULAS DE FERROPTOSIS COMO PREDICTORES DE EXACERBACIÓN GRAVE (HOSPITALIZACIÓN).....	93
6.	DISCUSIÓN.....	99
6.1.	ALTERACIONES SÉRICAS DE BIOMARCADORES DE FERROPTOSIS EN LA EPOC... 6.1.1. ACSL4.....	99
6.1.2.	sTfR1.....	101
6.1.3.	GPX4	104
6.1.4.	AIFM2	106
6.1.5.	INTERACCIÓN FUNCIONAL ENTRE GPX4 Y sTfR1.....	108
6.2.	ASOCIACIÓN CON PARÁMETROS CLÍNICOS Y FUNCIONALES.....	110
6.2.1.	ASOCIACIÓN CON PARÁMETROS ANTROPOMÉTRICOS Y COMPOSICIÓN CORPORAL.....	110
6.2.2.	ASOCIACIÓN CON LA CAPACIDAD DE EJERCICIO Y DESATURACIÓN DURANTE EL ESFUERZO	111
6.2.3.	ASOCIACIÓN CON EXACERBACIONES PREVIAS	112
6.2.4.	ASOCIACIÓN CON DISNEA PERCIBIDA Y FUNCIÓN PULMONAR.....	112
6.2.5.	CAPACIDAD PRONÓSTICA DE EXACERBACIONES MODERADAS Y SEVERAS.....	112
6.2.5.1.	Consideraciones clínicas y funcionales.....	113
6.3.	IMPLICACIONES FISIOPATOLÓGICAS Y METABÓLICAS.....	114
6.3.1.	COCIENTE sTfR1/GPX4 COMO ÍNDICE COMPUESTO.....	115
6.3.2.	IMPLICACIÓN LIMITADA DE ACSL4 Y AIFM2	115
6.4.	LIMITACIONES Y FORTALEZAS DEL ESTUDIO	115
7.	CONCLUSIONES	119
	BIBLIOGRAFÍA.....	121

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Clasificación GOLD ABCD/ABE.....	12
Figura 2 Esquema de tratamiento farmacológico según las guías GOLD	23
Figura 3 Alteraciones pulmonares por exposición crónica a humo de tabaco y contaminantes	27
Figura 4 Esquema de la ferroptosis: interacción entre captación de hierro, metabolismo del glutatión y peroxidación lipídica	38
Figura 5 Representación esquemática de la acción protectora del factor de transcripción relacionado con la eritropoyetina 2 (NRF2) frente a la ferroptosis	41
Figura 6 Doble papel de la ferroptosis en enfermedades pulmonares y cáncer	48
Figura 7 Mecanismo de acción de GPX4, TFR1, FSP1 y ACSL4 en la regulación de la ferroptosis	56
Figura 8 Tiempo libre de agudización estratificado por niveles de glutatión peroxidasa 4 (GPX4) en pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica	91
Figura 9 Tiempo libre de agudización estratificado por niveles del receptor soluble de la transferrina (sTfR1) en pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica.....	91
Figura 10 Tiempo libre de agudización estratificado por niveles del factor inductor de apoptosis mitocondrial 2 (AIFM2) en pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica.....	92
Figura 11 Tiempo libre de agudización estratificado por niveles del <i>Acyl-CoA synthetase long-chain family member 4</i> (ACSL4) en pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica..	92
Figura 12 Tiempo libre de agudización estratificado por niveles del cociente sTfR1/GPX4 en pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica	93
Figura 13 Tiempo libre de ingreso estratificado por niveles de la glutatión peroxidasa 4 (GPX4) en pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica	95
Figura 14 Tiempo libre de ingreso estratificado por niveles del factor soluble de la transferrina (sTfR1) en pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica.....	95
Figura 15 Tiempo libre de ingreso estratificado por niveles del factor inductor de apoptosis mitocondrial 2 (AIFM2) en pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica.....	96
Figura 16 Tiempo libre de ingreso estratificado por niveles del <i>Acyl-CoA synthetase long-chain family member 4</i> (ACSL4) en pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica.....	96
Figura 17 Tiempo libre de ingreso estratificado por niveles del del cociente sTfR1/GPX4 en pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica	97

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Clasificación de la <i>Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD)</i>	10
Tabla 2 Estratificación del riesgo según criterios GESEPOC	14
Tabla 3 Índice BODE (Índice de Masa Corporal, Obstrucción, Disnea y Ejercicio).....	17
Tabla 4 Características demográficas, clínicas y funcionales de los pacientes EPOC y el grupo control	74
Tabla 5 Resultados bioquímicos y niveles séricos de las moléculas relacionadas con la ferroptosis	76
Tabla 6 Asociaciones entre las variables del metabolismo del hierro y el receptor soluble de la transferrina (sTfR1)	78
Tabla 7 Asociaciones sin ajustar y ajustadas entre las características de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) y niveles elevados de moléculas relacionadas con la ferroptosis (\geq mediana), mediante regresión logística univariante y multivariante. Modelo A: regresión logística univariante y Modelo B: regresión logística multivariante	79
Tabla 8 Moléculas implicadas en la ferroptosis como predictores en la distancia recorrida en el test de marcha 6 minutos (TM6M)	86
Tabla 9 Moléculas implicadas en la ferroptosis como predictores de la desaturación de oxígeno en el test de marcha 6 minutos (TM6M)	88
Tabla 10 Moléculas relacionadas con la ferroptosis como predictores de exacerbaciones en la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC)	90
Tabla 11 Moléculas relacionadas con la ferroptosis como predictores de exacerbaciones en la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC)	94

LISTA DE ABREVIATURAS

4-HNE	4-hidroxinonenal
4PL	Modelo de regresión logística de cuatro parámetros
8-iso-PGF2 α	8-isoprostano prostaglandina F2 alfa
A1AT	Alfa 1 Antitripsina
ACSL4	<i>Acyl-CoA synthetase long-chain family member 4</i>
ADN	Ácido desoxiribonucleico
AEPOC	Agudización de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica
AIFM2	Factor inductor de apoptosis mitocondrial 2
anti IL-5	Anti interleucina 5
anti IL-5R α	Subunidad alfa del receptor de la interleucina-5
BC	Bronquitis Crónica
BCG	Bromocresol
BODE	<i>Body mass index, Obstruction, Dyspnea, Exercise</i>
BODEx	<i>Body mass index, Obstruction, Dyspnea, Exercise / con Exacerbaciones</i>
CAT	<i>COPD Assessment Test</i>
CCQ	<i>Clinical COPD Questionnaire</i>
CK	Creatincinasa
CoQ10	Coenzima Q10
CoQH ₂	Ubiquinol
COVID-19	Enfermedad por coronavirus 2019
CS	Humo de cigarrillo
CSE	Extracto de humo de cigarrillo
CT	Tomografía computarizada
DLCO	Capacidad de difusión pulmonar para monóxido de carbono
ECOPD	Exacerbaciones de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica
ELISA	Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas
EPOC	Enfermedad pulmonar obstructiva crónica
Fe ₂ O ₃	Óxido férrico
Fe ²⁺	Hierro ferroso
Fe ³⁺	Hierro férrico
FEV ₁	Volumen espiratorio forzado en el primer segundo

FSP1	Proteína supresora de la ferroptosis 1
FVC	Capacidad vital forzada
FFMI	Índice de masa libre de grasa
GesEPOC	Guía Española de la Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica
GOLD	<i>Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease</i>
GPX4	Glutatióñ peroxidasa 4
GSH	Glutatióñ
GSSG	Glutatióñ oxidado (glutatióñ disulfuro)
GWAS	Estudios del genoma completo (<i>Genome-Wide Association Study</i>)
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrógeno
HIF-1 α	Factor inducible por hipoxia 1 alfa
HO-1	Hemo oxigenasa 1
HRP	Peroxidasa de rábano picante
HUNT	<i>Nord-Trøndelag Health Study</i>
ICS	Corticosteroides inhalados
IL-18	Interleucina-18
IL-1 β	Interleucina 1 beta
IL-4R α	Receptor alfa de la interleucina 4
IL-6	Interleucina-6
IL-8	Interleucina-8
IMC	Índice de masa corporal
IPA	Índice de paquetes-año
IST	Índice de saturación de transferrina
KEAP1	<i>Kelch-like ECH-associated protein 1</i>
LABA	Broncodilatadores β 2 de acción larga (<i>Long-Acting Beta-Agonists</i>)
LAMA	Antimuscarínicos de acción larga (<i>Long-Acting Muscarinic Antagonists</i>)
LOX	Lipoxigenasas
LPS	Lipopolisacárido
MDA	Malondialdehído
MDW	<i>Monocyte Distribution Width</i>
MIFRP	Moléculas implicadas en la ferroptosis
mMRC	Escala modificada del <i>Medical Research Council</i>
MOTS-c	<i>Mitochondrial open reading frame of the 12S ribosomal RNA type-c</i>
MPO	Mieloperoxidasa

MRI	Resonancia magnética
NAID	Deficiencia de hierro sin anemia
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato reducido
NCOA4	<i>Nuclear receptor coactivator 4</i>
NRF2	<i>Nuclear factor erythroid 2-related factor 2</i>
NT-proBNP	Pro-péptido natriurético cerebral N-terminal
OD	Desaturación de oxígeno
p53	Proteína supresora tumoral p53
PCR	Proteína C Reactiva
PCT	Procalcitonina
PDE4	Fosfodiesterasa 4
PET	Tomografía por emisión de positrones
PHMG	Polímero de guanidina de hexametileno
PIMB	Países de Ingresos Medios y Bajos
PM0.18	Material particulado 0.18
PM2.5	Material particulado 2.5
pLoxA	Lipoxigenasa bacteriana
PUFAs	Ácidos grasos poliinsaturados
ROS	Especies reactivas de oxígeno
Romo1	<i>Reactive oxygen species modulator 1</i>
SABA	Broncodilatadores β 2 de acción corta (<i>Short-Acting Beta-Agonists</i>)
SAMA	Antimuscarínicos de acción corta (<i>Short-Acting Muscarinic Antagonists</i>)
SLC7A11	<i>Solute carrier family 7 member 11</i>
SpO ₂	Saturación de oxígeno periférica
SP-D	Proteína Surfactante D
sTFR1	Receptor soluble de transferrina tipo 1
TFG	Tasa de filtrado glomerular
TfR	Transferrina
TfR1	Receptor de transferrina
TMB	Tetrametilbenzidina
TM6M	Test de marcha de 6 minutos
TNF- α	Factor de necrosis tumoral alfa
TSAT	Saturación de transferrina
VAS	<i>Visual Analogue Scale</i>

1. INTRODUCCIÓN

1.1. LA EPOC

1.1.1. ETIOLOGÍA

La enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) es una neumopatía prevenible y heterogénea que se caracteriza por síntomas respiratorios crónicos como dificultad para respirar (disnea), tos, producción de esputo y/o exacerbaciones. Estos síntomas se deben a alteraciones en las vías aéreas, como bronquitis o bronquiolitis; y/o alveolos, como el enfisema, que provocan limitación persistente, a menudo progresiva, del flujo aéreo (Agusti *et al.*, 2023).

La EPOC es una de las tres principales causas de muerte en el mundo. Aproximadamente, el 90% de los fallecimientos asociados se producen en países de ingresos bajos y medios (PIMB). En 2012, más de 3 millones de personas murieron a causa de esta enfermedad, lo que representó el 6% de las muertes globales (Z. Wang *et al.*, 2025).

Aunque prevenible y tratable, la EPOC sigue siendo una causa importante de morbilidad y mortalidad crónica a nivel mundial, con millones de personas conviviendo con ella durante años y falleciendo prematuramente debido a sus complicaciones. Por tanto, representa un importante desafío para la salud pública, ya que su prevalencia en países desarrollados alcanza el 10% de la población adulta (Buist *et al.*, 2007) y, en nuestro país, se eleva hasta aproximadamente un 12% (Soriano *et al.*, 2021). Además, se prevé que su impacto aumente en las próximas décadas por la exposición continua a factores de riesgo y el envejecimiento de la población (GOLD, 2024).

1.1.2. FACTORES DE RIESGO

La EPOC resulta de interacciones complejas entre factores genéticos (G) y ambientales (E) que ocurren a lo largo de la vida del individuo (T), un enfoque conocido como GETomics. Estas interacciones pueden dañar los pulmones y/o alterar sus procesos normales de desarrollo y envejecimiento (GOLD, 2024).

Aunque se ha avanzado en la comprensión de la enfermedad, todavía existe una gran variabilidad en su inicio, progresión y en las trayectorias de la función pulmonar entre diferentes poblaciones y etapas de la vida, lo que limita la capacidad para identificar de manera precisa los factores predisponentes. Sin embargo, el tabaquismo, la contaminación del aire en interiores (especialmente por la combustión de biomasa), la contaminación ambiental y los contaminantes ocupacionales han sido identificados como los principales factores de riesgo en diversos contextos (Adeloye *et al.*, 2022).

1.1.2.1. Tabaco

En los países desarrollados, el tabaquismo se considera la principal causa de EPOC. El humo del tabaco contiene 4000 químicos, de los cuales, al menos 20 son carcinógenos (Salvi, 2014). Estas sustancias generan una respuesta inflamatoria crónica en el tejido pulmonar, afectando tanto a las células epiteliales como a las estructuras de soporte. Este proceso inflamatorio, combinado con el aumento del estrés oxidativo, desencadena un daño progresivo en los alvéolos, que se traduce en la destrucción de las paredes alveolares y la pérdida de elasticidad del pulmón, características fundamentales del enfisema. Además, el tabaco afecta la función de los macrófagos alveolares, debilitando la capacidad del sistema inmune para eliminar partículas y agentes patógenos, lo que favorece la acumulación de mucosidad y aumenta la susceptibilidad a infecciones respiratorias (Taylor, 2010).

No obstante, aunque la mayoría de los pacientes con EPOC tienen antecedentes de tabaquismo (en países de altos ingresos se estima que aproximadamente el 70% de los casos de EPOC están relacionados con el consumo de tabaco (Lu *et al.*, 2024)), solo el 15% de los fumadores desarrollan esta enfermedad. Este dato sugiere que, si bien el tabaquismo es un factor de riesgo clave, no actúa de manera aislada en el desarrollo de la enfermedad. La evidencia indica la participación de otros factores, tanto genéticos como ambientales, que pueden influir en la susceptibilidad individual y en la progresión de la patología, destacando la complejidad multifactorial de esta enfermedad (Salvi, 2014).

1.1.2.2. EPOC en no fumadores

La EPOC en no fumadores muestra diferencias fenotípicas frente a la EPOC en fumadores, como síntomas respiratorios más leves, menor declive de la función pulmonar, menos enfisema (aunque con mayor obstrucción de vías respiratorias pequeñas) y es más común en mujeres y personas jóvenes (Capistrano *et al.*, 2017). La inflamación, el estrés oxidativo y el envejecimiento pulmonar se identifican como mecanismos moleculares clave implicados en la EPOC; sin embargo, aún existen importantes lagunas en el conocimiento. Es fundamental avanzar en la investigación para profundizar en estas diferencias y desarrollar tratamientos específicos que aborden los diversos factores involucrados en la EPOC (GOLD, 2024).

1.1.2.3. Genética

Los factores genéticos desempeñan un papel importante en la susceptibilidad al desarrollo de la EPOC y en la aceleración de su progresión. Entre ellos, destaca el déficit de alfa-1 antitripsina (A1AT), una condición hereditaria que reduce la capacidad del organismo para proteger el tejido pulmonar del daño causado por enzimas proteolíticas. Este trastorno, que afecta al 1-3% de los casos de EPOC, es especialmente perjudicial en fumadores, ya que el tabaquismo intensifica el estrés oxidativo y la inflamación pulmonar (McGrady *et al.*, 2014). Como resultado, las personas con A1AT tienen un riesgo considerablemente mayor de desarrollar enfisema a edades tempranas, incluso en ausencia de otros factores ambientales adversos (Lee *et al.*, 2002). Además, estudios genómicos han identificado variantes genéticas que influyen en el desarrollo pulmonar, la respuesta inflamatoria y la reparación del tejido, contribuyendo al riesgo de EPOC. Aunque la heredabilidad de la enfermedad se estima entre el 38% y el 50%, estas variantes representan solo una fracción del riesgo total, subrayando la interacción entre genética y factores ambientales, como el tabaquismo (Lu *et al.*, 2024).

1.1.2.4. Biomasa y exposiciones ocupacionales

La exposición al humo de biomasa, generado por la combustión de materiales como madera, estiércol, residuos agrícolas y carbón, constituye un factor de riesgo significativo para el desarrollo de la EPOC, especialmente en los países de ingresos medianos y bajos. Este humo contiene contaminantes como partículas finas y gases

tóxicos que, al inhalarse, provocan inflamación crónica y daño en las vías respiratorias (Salvi, 2014). Cerca de tres mil millones de personas en todo el mundo utilizan biomasa y carbón como fuente principal de energía para cocinar y calentar sus hogares, lo que expone a una gran población al riesgo de desarrollar EPOC (Xuan Zhang *et al.*, 2023). En estas regiones, el tabaquismo representa solo entre el 30% y el 40% de los casos de EPOC, mientras que los factores no relacionados con el tabaquismo, como la exposición al humo de biomasa, contribuyen a más del 50% de la incidencia de la enfermedad, que se concentra en un 85% en los PIMB (GOLD, 2024). No obstante, la implicación de la biomasa en la etiopatogenia de la EPOC no se limita a regiones en vías de desarrollo. En un estudio realizado en población predominantemente rural en España, más del 20 % de los pacientes con EPOC remitidos a una consulta monográfica presentaban como único factor de riesgo la exposición al humo de biomasa (Golpe *et al.*, 2017)

Además, exposiciones ocupacionales, como el polvo, agentes químicos y vapores, son un factor de riesgo significativo para la EPOC, especialmente en regiones con baja regulación ambiental (Boschetto *et al.*, 2006). Se estima que entre el 10% y el 20% de los casos de EPOC están asociados a estas exposiciones, cifra que puede alcanzar el 31% si solo se tienen en cuenta los casos EPOC no fumadores. Este dato destaca la importancia de mejorar las condiciones laborales para prevenir la EPOC (GOLD, 2024).

Aunque estudios epidemiológicos han establecido una relación significativa entre la exposición al humo de biomasa y la EPOC, factores asociados a la pobreza, como la desnutrición, dificultan precisar los mecanismos subyacentes. Además, la falta de regulación ambiental en los PIMB amplifica el impacto pulmonar, y las investigaciones sobre intervenciones efectivas son aún limitadas (Capistrano *et al.*, 2017; GOLD, 2024).

1.1.3. DIAGNÓSTICO

Según las guías de la *Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease* (GOLD) 2024, el diagnóstico de EPOC debe considerarse en pacientes que presenten disnea, tos crónica, producción de esputo o antecedentes de exposición a factores de riesgo. Sin embargo, para confirmar el diagnóstico, es imprescindible realizar una espirometría forzada que muestre un cociente inferior al 0.7 entre el volumen espiratorio máximo en

el primer segundo (FEV_1) y la capacidad vital forzada (FVC) después de la administración de un broncodilatador (GOLD, 2024).

La espirometría es un procedimiento no invasivo, reproducible, barato y fácilmente disponible que, cuando es realizado por un operador capacitado con un espirómetro que proporciona retroalimentación de calidad, permite obtener resultados aceptables y reproducibles en la mayoría de los pacientes (GOLD, 2024). Esto la convierte en una herramienta clave para el reconocimiento y diagnóstico de la EPOC, especialmente en la atención primaria. Sin embargo, esta enfermedad continúa infradiagnosticada en este nivel, principalmente debido al uso insuficiente de la espirometría. La presencia de síntomas respiratorios no es un indicador confiable, y el diagnóstico suele retrasarse hasta etapas avanzadas, cuando ya se han desarrollado síntomas crónicos y una obstrucción severa del flujo aéreo (Johns *et al.*, 2014).

Se han realizado numerosos estudios en diversas poblaciones con el objetivo de estimar la prevalencia de casos de EPOC no diagnosticados (Axelsson *et al.*, 2023; Delmas *et al.*, 2021; Koga *et al.*, 2024; Spyros *et al.*, 2021). En el contexto nacional, el estudio EPISCAN II reveló que el infradiagnóstico de EPOC alcanza aproximadamente el 75% (Soriano *et al.*, 2021). No obstante, este alto porcentaje no se atribuye únicamente a la falta de realización de espirometrías, sino también a la ausencia de consulta médica por parte de los pacientes, especialmente aquellos fumadores que residen en áreas rurales, donde la búsqueda de atención primaria para la consulta de sintomatología respiratoria crónica suele ser menor (Calle Rubio *et al.*, 2022).

Por otro lado, entre el 25% y el 50% de las personas diagnosticadas o tratadas como EPOC no presentan obstrucción del flujo aéreo al ser evaluadas mediante espirometría, lo que se conoce como "sobrediagnóstico". Este término es controvertido, ya que la espirometría puede ser poco sensible en las etapas iniciales de la enfermedad. En estos casos, el tratamiento con corticosteroides inhalados (ICS) podría haberse administrado en una fase en la que la obstrucción del flujo aéreo aún era potencialmente reversible (Perret *et al.*, 2023).

En este sentido, el estudio SPIROMICS reveló que los síntomas respiratorios pueden preceder a la obstrucción detectable, lo que sugiere que los criterios convencionales,

como un $\text{FEV}_1/\text{FVC} < 0.7$, son insuficientes para identificar las fases iniciales de la enfermedad (Fazleen & Wilkinson, 2020). Esto resalta la importancia de aplicar la espirometría de manera más amplia y de explorar métodos adicionales que permitan detectar la enfermedad en etapas tempranas, optimizando así el tratamiento y abordando los factores de riesgo de manera oportuna (Johns *et al.*, 2014).

Estos hallazgos subrayan la necesidad de mejorar la precisión diagnóstica de la EPOC, especialmente en el ámbito de la atención primaria, y de corroborar estas observaciones mediante estudios prospectivos (Perret *et al.*, 2023).

1.1.4. CLÍNICA

La EPOC se caracteriza por síntomas como disnea, tos, producción de esputo, sibilancias, opresión torácica y congestión en el pecho, cuya frecuencia e intensidad varían según la gravedad de la enfermedad y la población de pacientes. En casos leves, la tos se reporta como el síntoma predominante. Estos síntomas no solo afectan la calidad de vida diaria, sino que también contribuyen significativamente a la carga global de la enfermedad (Miravitlles & Ribera, 2017).

1.1.4.1. Bronquitis crónica

La bronquitis crónica (BC) es una condición frecuente en pacientes con EPOC, definida por tos con expectoración de esputo durante al menos tres meses al año en dos años consecutivos, en ausencia de otras causas. La BC está asociada a hipersecreción de moco, lo que dificulta su eliminación y favorece la inflamación, infecciones, exacerbaciones recurrentes y un declive acelerado de la función pulmonar (FEV_1). En pacientes con enfisema avanzado, la BC contribuye a mayores tasas de hospitalización y mortalidad, lo que resalta la importancia de un manejo adecuado de la hipersecreción de moco en la EPOC (de Oca *et al.*, 2012; GOLD, 2024; V. Kim *et al.*, 2011).

1.1.4.2. Enfisema

El enfisema es una enfermedad pulmonar crónica caracterizada por la destrucción irreversible de las paredes alveolares, lo que provoca una reducción significativa en la superficie disponible para el intercambio gaseoso. Este proceso está asociado con una dilatación anómala y permanente de los espacios aéreos distales a los bronquiolos

terminales, lo que contribuye a la pérdida de elasticidad pulmonar y al atrapamiento aéreo. Como resultado, los pacientes experimentan una sensación persistente de dificultad respiratoria y una disminución progresiva en su capacidad pulmonar. El enfisema, al alterar de manera significativa la arquitectura pulmonar, representa una de las principales patologías que define la gravedad y progresión de la EPOC (Voelkel *et al.*, 2011).

1.1.4.3. Disnea

La disnea es uno de los síntomas más comunes y preocupantes en la EPOC, y suele ser el motivo principal que impulsa a los pacientes a buscar atención médica. Se caracteriza por ser persistente y progresiva, manifestándose inicialmente como limitaciones en las actividades diarias y, en estados más avanzados de la enfermedad, pudiendo llegar a causar el confinamiento en el hogar. Es fundamental diferenciar la disnea asociada a la EPOC de otras posibles causas mediante el uso de cuestionarios estandarizados. Si bien la disnea puede estar acompañada de sibilancias y opresión torácica, su ausencia no descarta el diagnóstico, subrayando la necesidad de emplear herramientas objetivas para su evaluación y diferenciación de otras posibles etiologías (Pauwels & Rabe, 2004).

Entre dichas herramientas, destaca la escala modificada del *Medical Research Council* (mMRC) (Fletcher, 1952), un instrumento ampliamente utilizado para valorar la gravedad de la disnea en paciente con EPOC. Esta herramienta de evaluación de 5 puntos basada en la severidad de la disnea que se utiliza ampliamente para evaluar la gravedad de este síntoma en pacientes con EPOC. Este cuestionario ha demostrado ser consistente con otras medidas del estado de salud y es capaz de predecir tanto el deterioro de la función pulmonar como el riesgo de mortalidad (Minakata *et al.*, 2016). Aunque es fácil de usar en la práctica clínica, su enfoque limitado a la disnea puede no reflejar completamente el impacto de la EPOC en la calidad de vida del paciente.

1.1.4.4. Cuestionarios de calidad de vida

La calidad de vida en la EPOC se puede estudiar mediante distintos cuestionarios, siendo los dos cuestionarios más comúnmente utilizados el de Saint George (P. W. Jones *et al.*, 1991) y el *COPD Assessment Test* (CAT) (P. Jones *et al.*, 2009; P. W. Jones *et al.*, 2009). El

cuestionario CAT y la escala mMRC son herramientas utilizadas para evaluar la gravedad de la EPOC, pero difieren en su enfoque y alcance (S. L. Cheng *et al.*, 2019).

El cuestionario CAT es un instrumento completado por el paciente diseñado para evaluar y cuantificar tanto la calidad de vida relacionada con la salud como la carga de síntomas en pacientes con EPOC. Consta de 8 preguntas, cada una presentada en una escala de 6 puntos (0–5), permitiendo obtener una puntuación total de hasta 40. Los rangos de puntuación se interpretan como impacto clínico leve (0–10), moderado (11–20), grave (21–30) y muy grave (31–40) (S. L. Cheng *et al.*, 2019)

En comparación, la escala mMRC, aunque también se utiliza para evaluar la gravedad de la EPOC, se enfoca exclusivamente en la disnea. Si bien es útil por su simplicidad y valor predictivo, su alcance limitado puede no reflejar completamente el impacto global de la EPOC en la calidad de vida. En este sentido, el CAT, al evaluar una gama más amplia de síntomas y dimensiones relacionadas con la salud, proporciona una visión más integral del estado clínico del paciente (S. L. Cheng *et al.*, 2019).

1.1.4.5. Exacerbaciones

Las exacerbaciones representan un aspecto crucial en la EPOC. Estas crisis se caracterizan por un empeoramiento agudo de los síntomas respiratorios que afecta la salud y el pronóstico de los pacientes. Además, la presencia de comorbilidades frecuentes en esta población, agrava significativamente la condición clínica, pudiendo imitar o intensificar los episodios agudos y requiriendo enfoques terapéuticos específicos para su manejo (GOLD, 2024).

Una agudización de EPOC (AEPOC o ECOPD, por sus siglas en inglés) se define como un evento caracterizado por un aumento de la disnea y/o la tos, acompañado de mayor producción de esputo, con un deterioro que ocurre en un periodo inferior a 14 días (Soler-Cataluña *et al.*, 2022). Este cuadro puede presentarse con taquipnea y/o taquicardia, y suele asociarse con un incremento de la inflamación local y sistémica provocada por infecciones, contaminación u otros factores que afectan negativamente las vías respiratorias (GOLD, 2024). Los síntomas suelen durar entre 7 y 10 días, aunque en algunos pacientes pueden persistir durante más tiempo. De hecho, un 20% recupera su estado basal incluso pasadas 8 semanas tras la agudización (Seemungal *et al.*, 2000).

Estos episodios no solo aceleran el deterioro de la función pulmonar, sino que también generan un impacto significativo en los sistemas sanitarios (GOLD, 2024).

Las AEPOC tienen una naturaleza heterogénea, producto de interacciones complejas entre el organismo del paciente, virus respiratorios, bacterias presentes en las vías respiratorias y factores ambientales como la contaminación (Wedzicha & Seemungal, 2007).

En las definiciones iniciales de exacerbación de la EPOC, el enfoque principal estaba en el empeoramiento de la disnea y el aumento del volumen y purulencia del esputo, destacando la infección aguda como la causa principal. En 2007, Celli y Barnes propusieron una nueva definición que introdujo dos avances clave: (1) la cuantificación de la disnea como el síntoma más relevante (>4 en una escala visual analógica (VAS, por sus siglas en inglés) de 0–10) y (2) la inclusión de parámetros objetivos, como niveles elevados de neutrófilos en sangre ($\geq 9000/\text{mm}^3$) y proteína C reactiva (PCR) ($\text{PCR} \geq 10 \text{ mg/L}$), descartando otras causas como neumonía o insuficiencia cardíaca. Este enfoque ha permitido un diagnóstico más preciso y detallado de las exacerbaciones (Celli & Barnes, 2007; MacLeod *et al.*, 2021).

Actualmente, podemos clasificar las exacerbaciones de EPOC en tres grupos (GOLD, 2024):

- Leves: tratadas con broncodilatadores de acción rápida (como el salbutamol).
- Moderadas: manejadas con antibióticos o corticosteroides.
- Severas: cuando requieren hospitalización.

En general, la frecuencia y la gravedad de las exacerbaciones tienden a incrementarse a medida que progresla la gravedad de la enfermedad. Sin embargo, existen diferencias significativas en las tasas anuales de incidencia de exacerbaciones entre pacientes con valores similares de FEV₁ (Wedzicha & Seemungal, 2007). En las guías nacionales de manejo de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica se considera agudizadas a los pacientes que han presentado un ingreso y/o 2 agudizaciones moderadas (aquellas que precisan de tratamiento con antibióticos y/o glucocorticoides para su resolución) (Miravitles *et al.*, 2022). Las agudizaciones severas, por su parte, se consideran factores de riesgo independientes de mortalidad (Soler-Cataluña *et al.*, 2009).

Los pacientes con exacerbaciones frecuentes ven reducida su calidad de vida, seguramente, debido a que muchos de ellos no recuperan niveles basales de síntomas y función pulmonar tras una agudización (Seemungal *et al.*, 2000). Además, estos pacientes muestran mayores niveles de inflamación, lo que se relaciona con una mayor progresión de la enfermedad. Aunque aún no se comprenden del todo las causas que explican las diferencias en las tasas de agudizaciones, es fundamental orientar las terapias hacia estrategias que reduzcan la aparición de estos episodios agudos (Celli & Barnes, 2007; Wedzicha & Seemungal, 2007).

1.1.5. CLASIFICACIÓN

Según las guías GOLD, una vez confirmado el diagnóstico de EPOC mediante espirometría, la evaluación para guiar el tratamiento debe enfocarse en cinco aspectos fundamentales: (1) la gravedad de la obstrucción al flujo aéreo, (2) la naturaleza y magnitud de los síntomas actuales, (3) los antecedentes de exacerbaciones moderadas y graves, (4) el recuento de eosinófilos en sangre, y (5) la presencia de enfermedades concomitantes (GOLD, 2024).

La **gravedad de la obstrucción al flujo aéreo** en la EPOC se evalúa utilizando el valor post-broncodilatador de FEV₁ obtenido en estabilidad clínica (% del valor de referencia, teniendo en cuenta edad, peso, talla, género y etnia). Cabe destacar que esta evaluación puede no coincidir con la gravedad general de la enfermedad. En la clasificación se establecen puntos de corte para facilitar su aplicación (GOLD, 2024) (Tabla 1).

Tabla 1

Clasificación de la Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD)

GOLD 1	Leve	FEV ₁ ≥80%
GOLD 2	Moderada	50 %≤FEV ₁ <80%
GOLD 3	Severa	30 %≤FEV ₁ <50%
GOLD 4	Muy severa	FEV ₁ < 30%

Nota. FEV₁: volumen espiratorio forzado en el primer segundo; FVC: capacidad vital forzada, por sus siglas en inglés. GOLD: *Global initiative for Chronic Obstructive Lung Disease*. Adaptada de GOLD, 2024.

La evaluación de la sintomatología se realiza mediante cuestionarios validados para la EPOC: CAT, mMRC o el cuestionario clínico para la EPOC (CCQ, *Clinical COPD Questionnaire*) (van der Molen *et al.*, 2003; Venkatesan, 2024).

El riesgo de exacerbaciones se evalúa según los episodios tratados en el año previo, considerándose de alto riesgo dos o más exacerbaciones moderadas o al menos una grave en un año. Además, su prevalencia, así como el riesgo de hospitalización y mortalidad, aumentan a medida que se deteriora el flujo aéreo, siendo el historial previo de exacerbaciones el principal predictor de nuevos eventos (GOLD, 2024; Singh *et al.*, 2019).

El nivel de eosinófilos en sangre es un biomarcador clave en el manejo de la EPOC, principalmente para guiar el uso de corticosteroides inhalados en combinación con broncodilatadores, optimizando así la prevención de exacerbaciones. Sin embargo, su capacidad para predecir el riesgo de exacerbaciones futuras de manera individual es limitada y depende del historial previo de exacerbaciones y del uso de ICS (Oishi *et al.*, 2020). En los pacientes con EPOC, valores elevados de eosinófilos se asocian con una mayor inflamación tipo 2 en las vías respiratorias, un deterioro acelerado de la función pulmonar en casos leves a moderados con bajo uso de ICS, y un mayor riesgo de desarrollar la enfermedad en personas jóvenes (Higham *et al.*, 2021). Estas evidencias subrayan la relevancia clínica de este biomarcador, aunque su utilidad debe evaluarse en función de las características específicas de cada paciente, integrando los resultados en un enfoque diagnóstico y terapéutico más amplio (GOLD, 2024; Oishi *et al.*, 2020).

La multimorbilidad es frecuente en pacientes con EPOC, independientemente de la severidad de la obstrucción del flujo aéreo, e impacta significativamente en la mortalidad y las hospitalizaciones, lo que resalta la importancia de su diagnóstico y tratamiento adecuado. Entre las comorbilidades más comunes se encuentran enfermedades cardiovasculares, síndrome metabólico, osteoporosis, depresión, ansiedad y, en particular, un mayor riesgo de cáncer de pulmón, especialmente en pacientes con enfisema (Divo & Celli, 2020). Además, la EPOC presenta efectos extrapulmonares como disfunción muscular esquelética, sarcopenia y anomalías nutricionales, que contribuyen a la intolerancia al ejercicio y al deterioro de la salud (Gea *et al.*, 2014). Estos efectos, sin embargo, pueden ser abordados mediante programas de

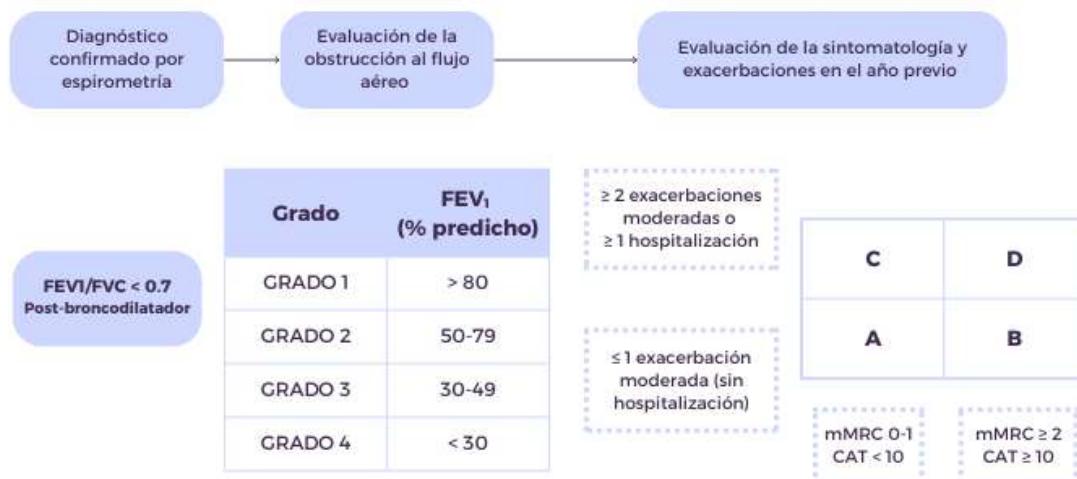
rehabilitación, destacando así la importancia de un manejo integral de la enfermedad (Borghi-Silva *et al.*, 2025; Divo & Celli, 2020).

HERRAMIENTA GOLD ABE

En 2011, GOLD introdujo la clasificación ABCD, una estrategia de evaluación combinada para la EPOC que integraba el nivel de síntomas (mediante el uso de cuestionarios mMRC o CAT), la gravedad de la obstrucción del flujo aéreo (grados GOLD 1-4) y la frecuencia de exacerbaciones durante el año previo, con el objetivo de guiar el tratamiento farmacológico inicial y resaltar la importancia de la prevención de exacerbaciones (GOLD, 2011). Sin embargo, la gravedad de la obstrucción del flujo aéreo fue eliminada posteriormente debido a su baja precisión a nivel individual para predecir resultados y orientar decisiones terapéuticas (J. H. Kim *et al.*, 2015; Soriano *et al.*, 2015). En 2023, GOLD propuso una nueva evolución del esquema ABCD, fusionando los grupos C y D en un único grupo denominado “E”, para destacar la relevancia clínica de las exacerbaciones, independientemente de los síntomas, y estableció la necesidad de validación clínica de esta propuesta (GOLD, 2024) (Figura 1).

Figura 1

Clasificación GOLD ABCD/ABE



Nota. CAT: COPD assessment test; FEV₁: volumen espiratorio forzado en el primer segundo; FVC: capacidad vital forzada; GOLD: Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease; mMRC: escala modificada del Medical Research Council. Adaptada de GOLD, 2024.

El impacto de esta nueva clasificación fue evaluado en una cohorte china de pacientes con EPOC, comparando las clasificaciones GOLD 2023 ABE y GOLD 2017 ABCD para predecir hospitalizaciones y mortalidad. Los resultados mostraron que el grupo E tenía un mayor riesgo de hospitalización durante el primer año en comparación con los grupos A y B, y la mortalidad aumentaba progresivamente desde el grupo A hasta el E. Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas en la capacidad predictiva de hospitalización entre ambas clasificaciones, y la predicción de mortalidad fue ligeramente superior con la clasificación GOLD 2017 ABCD. Estos resultados sugieren que, aunque la clasificación GOLD 2023 ABE simplifica la evaluación clínica, no mejora la predicción de mortalidad en comparación con la clasificación GOLD 2017 ABCD (W. Cheng *et al.*, 2023).

Esta evidencia destaca la importancia de considerar el historial de exacerbaciones en la planificación del tratamiento. En pacientes clasificados en los grupos A y B, aquellos que tenían un historial de al menos 1 exacerbación en el año previo presentaron un riesgo significativamente mayor de recurrencia y hospitalización frente a quienes no tenían antecedentes. Por tanto, incluso en casos con síntomas leves o moderados, el historial de exacerbaciones debe ser un factor clave en la toma de decisiones terapéuticas (Vanfleteren *et al.*, 2023).

CLASIFICACIÓN GESEPOC

La estratificación del riesgo según la Guía Española de la Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica (GesEPOC) evalúa la probabilidad de que un paciente experimente agudizaciones, progresión de la enfermedad, complicaciones futuras, mayor uso de recursos sanitarios o incremento de la mortalidad. Para ello, se clasifican a los pacientes en dos niveles de riesgo: bajo y alto, basándose en tres factores principales (Miravitlles *et al.*, 2022) (Tabla 2):

- Grado de obstrucción: medido a través de espirometría, utilizándose el porcentaje de FEV1 post-broncodilatador.
- Grado de disnea: evaluado a través de la escala mMRC.
- Historial de agudizaciones: número de exacerbaciones de la enfermedad en el año previo.

Tabla 2

Estratificación del riesgo según criterios GESEPOC

	Riesgo Bajo (se tienen que cumplir todos los criterios)	Riesgo Alto (se ha de cumplir al menos un criterio)
Obstrucción (% FEV ₁ post-broncodilatador)	≥ 50%	< 50%
Grado de disnea (mMRC)	0-1	≥ 2
Agudizaciones en el año previo	0-1 sin ingreso	≤ 2 moderadas o 1 ingreso

Nota. FEV₁: volumen espiratorio forzado en el primer segundo; GesEPOC: guía española de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica; mMRC: escala modificada del *Medical Research Council*. Adaptada de Miravitles *et al.*, 2022.

En contraste con la nueva clasificación GOLD ABE, en este caso, la inclusión del FEV₁ en esta evaluación sí añade un valor predictivo significativo sobre la mortalidad (Cabrera López *et al.*, 2019). Estudios recientes han demostrado que esta clasificación de riesgo es adecuada para la práctica clínica y útil en la selección del tratamiento farmacológico (Miravitles *et al.*, 2022).

1.1.6. PRONÓSTICO

1.1.6.1. Espirometría

La espirometría es una herramienta clave para evaluar la función pulmonar y diagnosticar enfermedades respiratorias. En el contexto de la EPOC, parámetros espirométricos como la FEV₁ y la FVC son esenciales para determinar la gravedad de la obstrucción y predecir la progresión de la enfermedad (Marott *et al.*, 2021). El estudio HUNT (*Nord-Trøndelag Health Study*), realizado en Noruega, demostró cómo estos parámetros espirométricos están estrechamente relacionados con la progresión de la enfermedad, la aparición de síntomas y la mortalidad. Además, validó la utilidad de la espirometría estandarizada en poblaciones generales, demostrando su relevancia no

solo para diagnosticar la enfermedad, sino también para predecir su evolución (Bhatta *et al.*, 2021).

No obstante, para una evaluación pronóstica integral de la EPOC, es fundamental combinar los resultados espirométricos con otros factores clínicos y funcionales, como la disnea, la tolerancia al ejercicio y la presencia de comorbilidades, que también influyen en la evolución de la enfermedad y la respuesta al tratamiento (Marott *et al.*, 2021).

1.1.6.2. Test de la marcha de 6 minutos

En algunos pacientes con EPOC, es posible observar síntomas mínimos a pesar de presentar una obstrucción severa al flujo aéreo. Esta discrepancia puede atribuirse a una percepción reducida de la disnea y/o a adaptaciones en el estilo de vida, como el sedentarismo, que buscan minimizar la generación de fatiga (Macarioa *et al.*, 2005). En estos casos, la evaluación mediante pruebas de ejercicio, como la distancia recorrida en el test de marcha de seis minutos (TM6M), puede revelar limitaciones funcionales graves que justifican la necesidad de tratamientos más intensivos, como programas de rehabilitación pulmonar, los cuales podrían no ser evidentes en una evaluación inicial (GOLD, 2024).

Además, la reducción en la distancia recorrida en el TM6M se reconoce como un indicador clave del deterioro del estado de salud y un predictor confiable del pronóstico en pacientes con EPOC (Celli *et al.*, 2004; Chae *et al.*, 2022).

1.1.6.3. Estado nutricional

En la EPOC, el estado nutricional deficiente es un factor clave que contribuye al desarrollo de debilidad muscular, intolerancia al ejercicio y disnea, lo que afecta de manera significativa la calidad de vida de los pacientes. Este deterioro nutricional suele ser consecuencia de una baja ingesta de nutrientes, inflamación sistémica y un estilo de vida sedentario. Se estima que entre el 30% y el 60% de los pacientes con EPOC presentan desnutrición, generalmente asociada con la gravedad de la obstrucción de las vías respiratorias (Tramontano & Palange, 2023). Un estado nutricional anormal y los cambios en la composición corporal, como la caquexia, la sarcopenia y la osteoporosis,

están vinculados a un peor pronóstico, incrementando el riesgo de exacerbaciones, depresión y mortalidad (Alcolea Batres *et al.*, 2007).

Implementar una terapia nutricional individualizada es fundamental para prevenir el deterioro nutricional, fortalecer el sistema inmunológico, preservar la musculatura y mejorar la tolerancia al ejercicio (Tramontano & Palange, 2023). Este enfoque debe ser parte de una estrategia multidisciplinaria que no solo trate la enfermedad, sino que también permita profundizar en la comprensión de los mecanismos que subyacen al deterioro nutricional en la EPOC (Macario *et al.*, 2009; Tramontano & Palange, 2023).

1.1.6.4. Disfunción muscular medida por el índice de masa libre de grasa

La disfunción muscular es una manifestación sistémica significativa en la EPOC, que afecta tanto a la musculatura respiratoria como a la periférica. Una herramienta clave para evaluar esta disfunción es el índice de masa libre de grasa (FFMI, por sus siglas en inglés), que cuantifica la masa muscular en relación con la estatura del paciente (Schols *et al.*, 2005).

Estudios recientes han demostrado una correlación entre valores bajos de FFMI y una mayor severidad de la enfermedad. Los pacientes con EPOC y un FFMI bajo presentan una mayor gravedad de la enfermedad, incluyendo una mayor disnea y una menor tolerancia al ejercicio (Jin *et al.*, 2024). Además de la pérdida de masa muscular, esta disfunción implica cambios en la composición de las fibras musculares y una disminución de la fuerza, atribuibles a factores como el desuso, la inflamación sistémica y los desequilibrios nutricionales (Shimada *et al.*, 2023).

La evaluación del FFMI en pacientes con EPOC es, por lo tanto, esencial para identificar aquellos en riesgo de disfunción muscular severa. Intervenciones dirigidas a mejorar o mantener la masa muscular, como programas de rehabilitación pulmonar y estrategias nutricionales, pueden ser beneficiosas para mejorar la calidad de vida y los resultados clínicos en estos pacientes (Luo *et al.*, 2016).

1.1.6.5. Índice BODE e índice BODEx

El índice BODE (Índice de Masa Corporal, Obstrucción, Disnea y Ejercicio, por sus siglas en inglés) es una herramienta multidimensional ampliamente utilizada para evaluar la gravedad y el pronóstico de la EPOC (Celli *et al.*, 2004). Este índice integra cuatro parámetros clave: el índice de masa corporal (IMC), el grado de obstrucción del flujo aéreo medido por FEV₁, la disnea evaluada mediante mMRC y la capacidad de ejercicio determinada por TM6M (Tabla 3).

Tabla 3

Índice BODE (Índice de Masa Corporal, Obstrucción, Disnea y Ejercicio)

		PUNTUACIÓN			
		0	1	2	3
B	IMC (kg/m ²)	>21	≤ 21	-	-
O	FEV ₁ (%)	≥ 65	50-64	36-49	≤ 35
D	Disnea (mMRC)	0-1	2	3	4
E	TM6M (m)	≥ 350	250-349	150-249	≤ 149

Nota. IMC: índice de masa corporal; FEV₁: volumen espiratorio forzado en el primer segundo; mMRC: escala modificada del *Medical Research Council*; TM6M: test de marcha de 6 minutos. La puntuación total del índice BODE se obtiene sumando los valores de cada componente, y se utiliza como predictor de mortalidad en la EPOC. Adaptada de Celli *et al.*, 2004.

Si bien parámetros individuales como el FEV₁ y la tolerancia al ejercicio medida por el TM6M ayudan a identificar a pacientes con mayor riesgo de mortalidad, el índice BODE ofrece un enfoque más integral. Su puntuación compuesta permite predecir la supervivencia con mayor precisión que cualquiera de sus componentes por separado, proporcionando una evaluación más completa del estado del paciente y facilitando la estratificación del riesgo en la práctica clínica y optimizando la toma de decisiones clínicas en el manejo de la enfermedad (GOLD, 2024).

Una puntuación elevada en el índice BODE se correlaciona con niveles más altos de inflamación sistémica, lo que indica una progresión más severa de la enfermedad y un peor pronóstico (K. P. K. Shah *et al.*, 2024). Asimismo, estos pacientes experimentan una mayor desaturación durante el ejercicio, lo que refleja una capacidad reducida para

mantener niveles adecuados de oxigenación durante la actividad física (Viritha *et al.*, 2022).

El índice BODEx es una variante del BODE que sustituye el TM6M por la frecuencia de exacerbaciones, lo que facilita su aplicación en entornos clínicos sin acceso a pruebas de esfuerzo o en pacientes con limitaciones funcionales (Soler-Cataluña *et al.*, 2022). Su capacidad predictiva en términos de mortalidad y progresión de la EPOC es comparable a la del BODE, respaldada por la evidencia que asocia las exacerbaciones frecuentes con un mayor deterioro funcional, inflamación sistémica y riesgo de hospitalización (Miravitles *et al.*, 2012).

Dada su utilidad pronóstica y facilidad de uso, la Guía Española de la EPOC recomienda el BODEx como alternativa cuando el TM6M no está disponible, facilitando un enfoque terapéutico más accesible y personalizado sin comprometer la precisión del diagnóstico (Miravitles *et al.*, 2022). Sin embargo, según las guías GOLD, aunque existen alternativas más sencillas al BODE que prescinden de la prueba de ejercicio, aún es necesario validarlas en distintos niveles de gravedad y entornos clínicos para garantizar su aplicabilidad en la práctica diaria (GOLD, 2024).

A pesar de su utilidad, ambos índices tienen limitaciones. El índice BODE, al requerir el TM6M, puede no ser factible en todos los entornos clínicos debido a restricciones logísticas o limitaciones del paciente. Además, ha sido comparado con otros índices multidimensionales y no es el mejor predictor de exacerbaciones futuras en todos los grupos de pacientes (Motegi *et al.*, 2013; Stafyla *et al.*, 2013).

Por su parte, el índice BODEx, es más sencillo de aplicar; sin embargo, su utilidad se ha demostrado principalmente en pacientes con EPOC leve o moderada. En casos más avanzados de la enfermedad (BODEx superior a 5 puntos), se recomienda complementar la evaluación con pruebas de ejercicio para obtener una valoración más precisa (Miravitles *et al.*, 2012; Soler-Cataluña *et al.*, 2009).

Además, ambos índices pueden infraestimar el riesgo en pacientes con comorbilidades significativas o características clínicas atípicas, lo que sugiere la necesidad de una evaluación integral que considere otros factores pronósticos (Marin *et al.*, 2011).

1.1.7. COMORBILIDADES

La EPOC es frecuente en rangos de edades medias y avanzadas y suele coexistir con diversas comorbilidades, como diabetes tipo 2 y enfermedades cardiovasculares. Estas afecciones comparten factores de riesgo con la EPOC, como el tabaquismo, el uso de corticosteroides y la inflamación sistémica. Por ejemplo, citoquinas inflamatorias como la proteína C reactiva, el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) o la interleucina-6 (IL-6) desempeñan un papel fundamental en la resistencia a la insulina y al desarrollo de diabetes tipo 2. Además, el estrés oxidativo, especialmente durante las exacerbaciones, agrava esta condición (Celli & Barnes, 2007).

Las comorbilidades no solo coexisten con la EPOC, sino que también modulan su evolución clínica (Almagro *et al.*, 2024). Por ejemplo, la insuficiencia cardíaca, puede intensificar la disnea y aumentar la gravedad de las exacerbaciones (Hawkins *et al.*, 2009). Además, la EPOC se relaciona con un mayor riesgo de osteoporosis, en gran parte debido a la inflamación crónica y al uso prolongado de corticosteroides, lo que incrementa la probabilidad de fracturas (Sarkar *et al.*, 2015). La depresión es frecuente también en estos pacientes, afectando negativamente la adherencia al tratamiento y la calidad de vida (Mikkelsen *et al.*, 2004). Por otro lado, el cáncer de pulmón presenta una mayor incidencia en personas con EPOC, dado que ambas enfermedades comparten factores de riesgo como el tabaquismo y la inflamación persistente (Criner *et al.*, 2022).

Identificar y tratar estas comorbilidades es clave para mejorar el pronóstico y la calidad de vida de los pacientes. Un enfoque integral podría no solo reducir la mortalidad, sino también potenciar la eficacia del tratamiento (GOLD, 2024).

1.1.8. TRATAMIENTO

La EPOC es una enfermedad compleja y multifactorial que presenta grandes desafíos para el desarrollo de tratamientos eficaces. Para abordarla, se ha adoptado un enfoque integral que combina estrategias farmacológicas y no farmacológicas, con el objetivo de controlar los síntomas y las exacerbaciones, mejorar la calidad de vida de los pacientes y frenar la progresión de la enfermedad (Hanania *et al.*, 2005).

El manejo farmacológico de la EPOC se centra principalmente en el control de los síntomas y las exacerbaciones, dependiendo en gran medida del uso de broncodilatadores y corticosteroides, la mayoría de los cuales se administran por vía inhalada (Matera *et al.*, 2021). Además, el tratamiento incluye varias clases de medicamentos, cuya elección depende de factores como la disponibilidad, el coste y la respuesta clínica frente a posibles efectos secundarios. Es esencial que cada régimen terapéutico sea individualizado, dado que la relación entre los síntomas, la obstrucción del flujo aéreo y las exacerbaciones varía entre los pacientes (GOLD, 2024).

1.1.8.1. Tratamiento farmacológico

BRONCODILATADORES

Los broncodilatadores son la piedra angular del tratamiento sintomático de la EPOC, incluso cuando la reversibilidad de la obstrucción del flujo aéreo es limitada. A lo largo de los años, se han mejorado las clases de broncodilatadores existentes en términos de potencia, duración de acción y dispositivos de administración (Matera *et al.*, 2021).

Existen diferentes grupos farmacológicos que encontramos combinados en los diferentes inhaladores comerciales (GOLD, 2024):

1. Agonistas Beta₂: relajan el músculo liso de las vías respiratorias mediante la estimulación de los receptores beta₂-adrenérgicos, lo que genera un antagonismo funcional frente a la broncoconstricción. Encontramos dos tipos según su duración:
 - a. *Short-acting beta₂-agonists* (SABA)
 - b. *Long-acting beta₂-agonists* (LABA)
2. Antimuscarínicos: bloquean los efectos broncoconstrictores de la acetilcolina sobre receptores muscarínicos expresados en el músculo liso de las vías respiratorias. Encontramos dos tipos según su duración:
 - a. *Short-acting antimuscarinics* (SAMA)
 - b. *Long-acting antimuscarinics* (LAMA)

CORTICOSTEROIDES INHALADOS (ICS)

El uso de corticosteroides inhalados en la EPOC ha sido históricamente un foco de debate, sin embargo, ahora está respaldado por importantes ensayos clínicos (Hanania *et al.*, 2005). Según la guía GOLD, se recomienda su uso regular en pacientes sintomáticos con exacerbaciones frecuentes y FEV₁ <50% (GOLD, 2024), siendo los pacientes agudizadores con elevadas concentraciones de eosinófilos (>300 células/mm³) en sangre los que presentan mayor respuesta clínica a los ICS (Miravitles *et al.*, 2022).

TRIPLE TERAPIA

La intensificación del tratamiento inhalado a una combinación de LABA, LAMA e ICS (triple terapia) ha demostrado mejorar la función pulmonar y reducir las exacerbaciones en comparación con LAMA solo, LABA+LAMA y LABA+ICS (GOLD, 2024).

GLUCOCORTICOIDES ORALES

Los corticosteroides orales son efectivos para manejar exacerbaciones agudas en pacientes hospitalizados o en urgencias, ya que disminuyen las tasas de fallos en el tratamiento, recaídas y mejoran la función pulmonar. Sin embargo, su uso crónico no es recomendable debido a la ausencia de beneficios a largo plazo y al elevado riesgo de complicaciones sistémicas (GOLD, 2024).

INHIBIDORES DE LA FOSFODIESTERASA-4 (PDE4)

El roflumilast, un fármaco antiinflamatorio inhibidor de la PDE4 administrado por vía oral, ha demostrado reducir la probabilidad de sufrir agudizaciones en un 17-22% (MacLeod *et al.*, 2021) en pacientes con EPOC grave, BC y que sufren agudizaciones frecuentes, especialmente en aquellos con hospitalizaciones previas (Miravitles *et al.*, 2022). También mejora la función pulmonar cuando se combina con broncodilatadores de acción prolongada o en pacientes con control insuficiente en tratamiento con LABA+ICS (GOLD, 2024). No obstante, tiene efectos adversos desagradables para el paciente, principalmente gastrointestinales, que, en ocasiones, condicionan el abandono del tratamiento (Miravitles *et al.*, 2022).

MACRÓLIDOS

El uso regular de ciertos antibióticos, como azitromicina o eritromicina, puede disminuir la frecuencia de exacerbaciones en algunos pacientes, aunque la azitromicina se ha asociado con un aumento en la resistencia bacteriana, prolongación del intervalo QTc y problemas auditivos (GOLD, 2024), por lo que se recomienda evaluar el posible riesgo-beneficio de forma anual (Miravittles *et al.*, 2022). Las guías, tanto GOLD como GesEPOC, recomiendan el uso de azitromicina a largo plazo en pacientes con EPOC de moderada a muy grave y que continúen padeciendo agudizaciones a pesar de un tratamiento inhalado adecuado.

MUCOLÍTICOS Y AGENTES ANTIOXIDANTES

Los mucolíticos como la carbocisteína y la N-acetilcisteína a dosis altas, consideradas antioxidantes, han demostrado una reducción significativa de las agudizaciones, especialmente en pacientes de alto riesgo (aquellos con FEV₁ < 50%; con dos o más agudizaciones en el año previo, o ambos) (Miravittles *et al.*, 2022).

FUTURO DEL TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO DE LA EPOC

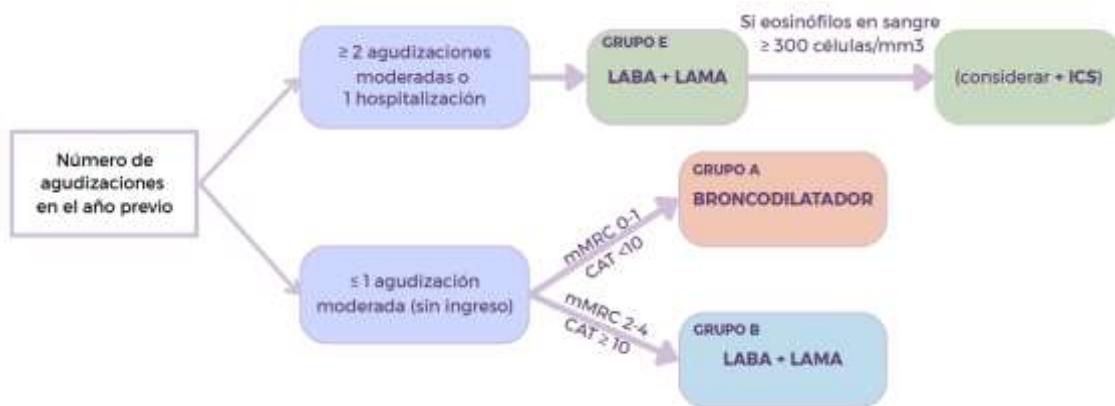
La inflamación en los pulmones de los pacientes con EPOC presenta una respuesta limitada a los corticosteroides, por lo que se necesitan nuevos enfoques farmacológicos antiinflamatorios para optimizar el manejo de la enfermedad (Matera *et al.*, 2021)

Algunos tratamientos recientes han mostrado resultados prometedores. Los anticuerpos monoclonales dirigidos contra la interleucina-5 (anti-IL-5), como mepolizumab, y contra subunidad alfa del receptor de la IL-5 (anti-IL-5R α), como benralizumab, ya aprobados para su uso en pacientes asmáticos, han mostrado una reducción del 15-20% en exacerbaciones graves en pacientes con inflamación eosinofílica, aunque los resultados han sido variables y no siempre estadísticamente significativos (Pavord *et al.*, 2021; Singh *et al.*, 2023). De igual forma, el uso de dupilumab, un anticuerpo dirigido al receptor de IL-4R α , ha mostrado mejoras en la función pulmonar, reducción de exacerbaciones y una mayor calidad de vida en pacientes con bronquitis crónica, altos niveles de eosinófilos (>300 células/mm³) y antecedentes de exacerbaciones frecuentes (Bhatt *et al.*, 2024).

En resumen, aunque algunas opciones terapéuticas han mostrado potencial en casos específicos, es indispensable continuar investigando para validar su eficacia y determinar con mayor exactitud qué subgrupos de pacientes podrían beneficiarse de estos avances (GOLD, 2024)(Figura 2).

Figura 2

Esquema de tratamiento farmacológico según las guías GOLD



Nota. CAT = COPD Assessment Test; ICS = corticosteroide inhalado; LABA = broncodilatador beta-2 de acción prolongada; LAMA = anticolinérgico de acción prolongada; mMRC = escala modificada del *Medical Research Council*. Adaptada de GOLD, 2024. La figura representa el algoritmo de tratamiento inicial de la EPOC basado en el número de agudizaciones en el último año y en el grado de sintomatología del paciente. Los individuos con dos o más agudizaciones moderadas, o al menos una hospitalización, se clasifican dentro del grupo E, y se recomienda tratamiento combinado con LABA y LAMA, considerando la adición de ICS en presencia de eosinofilia igual o superior a 300 células/mm³. En los pacientes con una o ninguna agudización moderada, la decisión terapéutica depende de la carga de síntomas. Aquellos con baja sintomatología, definida por mMRC entre 0 y 1 y CAT menor de 10, se incluyen en el grupo A, con indicación de broncodilatador. En cambio, quienes presentan mayor carga sintomática (mMRC entre 2 y 4 o CAT igual o superior a 10) se clasifican como grupo B, y se recomienda tratamiento combinado con LABA y LAMA.

1.1.8.2. Tratamiento no farmacológico

CESE DEL TABACO

Dejar de fumar es fundamental para todos los pacientes con EPOC, ya que es la intervención más efectiva para ralentizar la progresión de la enfermedad, aliviar los síntomas diarios y reducir la frecuencia de las exacerbaciones (Bai *et al.*, 2017). Sin embargo, aproximadamente el 40% de los pacientes con EPOC sigue fumando (Carrión Valero *et al.*, 2018), lo que empeora su pronóstico. A pesar de los desafíos a los que se encuentran los pacientes a la hora de dejar de fumar, con un apoyo adecuado y recursos efectivos, se han logrado tasas de abandono a largo plazo entre el 14% y el 27%. Los profesionales de la salud juegan un papel esencial al motivar y apoyar activamente a los pacientes para dejar de fumar en cada oportunidad posible (GOLD, 2024).

EJERCICIO FÍSICO

Uno de los mayores desafíos en los pacientes con EPOC es promover y mantener la actividad física, ya que, como consecuencia de la limitación en la capacidad respiratoria, tienden a ser menos activos, lo que provoca un ciclo negativo de inactividad que afecta su calidad de vida, incrementa las hospitalizaciones y aumenta la mortalidad (Gimeno-Santos *et al.*, 2014). Para abordar este problema, es fundamental implementar intervenciones que promuevan cambios de comportamiento enfocados en aumentar la actividad física (Watz *et al.*, 2014). En este contexto, las tecnologías pueden ser aliadas clave al ofrecer herramientas accesibles que educan, motivan y fortalecen la confianza de los pacientes para realizar ejercicio, especialmente en aquellos con baja motivación inicial (GOLD, 2024).

REHABILITACIÓN PULMONAR

La rehabilitación pulmonar, tanto hospitalaria como domiciliaria, ha demostrado claros beneficios para los pacientes con EPOC, siendo la estrategia más efectiva para mejorar la disnea, la capacidad de ejercicio y la calidad de vida, especialmente en casos de enfermedad moderada a grave (GOLD, 2024).

VACUNACIÓN

Las vacunas desempeñan un papel fundamental en la prevención de enfermedades potencialmente mortales. Los pacientes con EPOC se consideran en mayor riesgo de padecer infecciones respiratorias, muchas de las cuales son prevenibles a través de la vacunación (Pesek & Lockey, 2011). Al menos el 70% de las exacerbaciones de la EPOC tienen un origen infeccioso, y los virus respiratorios se identifican en aproximadamente el 30% de los casos (Bekkat-Berkani *et al.*, 2017). Por ello, se recomienda la vacunación anual contra la gripe y la enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19) para todos los pacientes con EPOC, junto con la vacuna antineumocócica (GOLD, 2024; Miravitlles *et al.*, 2022).

OXIGENOTERAPIA

La oxigenoterapia prolongada (más de 15 horas al día) mejora la supervivencia en pacientes con insuficiencia respiratoria crónica e hipoxemia severa en reposo, pero no muestra beneficios sostenidos en la mortalidad, hospitalizaciones o calidad de vida en pacientes con EPOC estable y desaturación moderada (The Long-Term Oxygen Treatment Trial Research Group, 2016). Aunque el uso de oxígeno durante el entrenamiento físico puede aliviar la disnea en algunos casos, no se han observado mejoras significativas en la disnea diaria ni en la calidad de vida relacionada con la salud, según la mayoría de los estudios disponibles (GOLD, 2024).

1.1.9. BIOMARCADORES

En los últimos años, el uso de biomarcadores en la EPOC ha despertado un interés creciente. Los biomarcadores se definen como "características, ya sean clínicas, funcionales, biológicas y/o de imágenes, que pueden medirse y evaluarse de manera objetiva para indicar procesos biológicos normales, patogénicos o respuestas farmacológicas a intervenciones terapéuticas" (Hoult *et al.*, 2022; Milne & Sin, 2020). Sin embargo, la interpretación de estos datos ha presentado desafíos significativos, principalmente debido a la debilidad de las asociaciones observadas y a la falta de reproducibilidad en estudios realizados con grandes cohortes de pacientes (Fermont *et al.*, 2019; GOLD, 2024).

En este contexto, la investigación molecular ha revolucionado el entendimiento de la EPOC más allá de su relación con el tabaquismo y las exposiciones ambientales. Avances en biología molecular han destacado el papel de la genética, las modificaciones epigenéticas y las complejas vías celulares en el desarrollo de la enfermedad (C.-L. Li & Liu, 2024).

Se ha identificado la importancia de la inflamación, el estrés oxidativo y el desequilibrio entre proteasas y antiproteasas como factores clave en el daño pulmonar. Además, estudios genéticos han revelado variantes asociadas con el riesgo y la severidad de la EPOC, abriendo nuevas puertas para tratamientos personalizados (C.-L. Li & Liu, 2024).

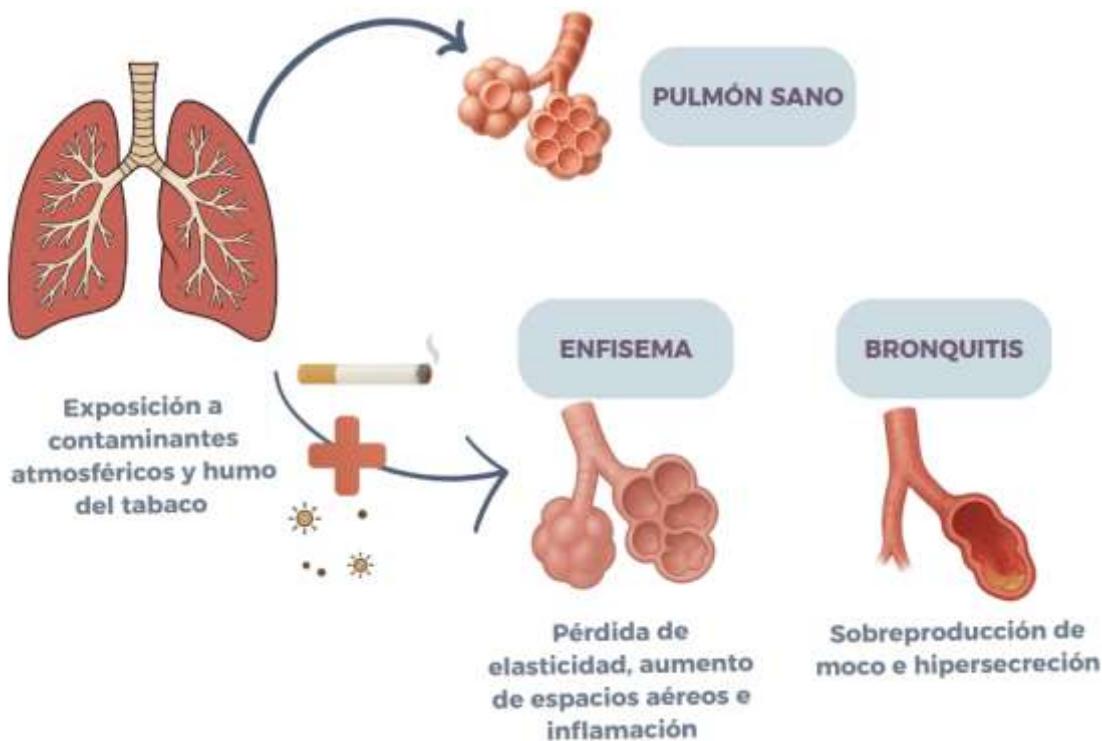
Estos avances subrayan el potencial de la investigación molecular para guiar estrategias de manejo adaptadas a cada paciente, permitiendo el desarrollo de terapias dirigidas y una medicina de precisión que mejore significativamente la atención y los resultados clínicos (C.-L. Li & Liu, 2024).

1.1.9.1. Patogénesis molecular de la EPOC

La EPOC se caracteriza principalmente por dos condiciones: el enfisema, que implica la destrucción de los alvéolos y una disminución de la superficie para el intercambio de gases, y la bronquitis crónica, definida por una inflamación persistente de los bronquios que provoca producción excesiva de moco y obstrucción del flujo aéreo (Figura 3). Su desarrollo y progresión están impulsados por una compleja interacción de mecanismos moleculares. Por ello, comprender estos procesos es esencial para diseñar fármacos que ayuden a mitigar la enfermedad (C.-L. Li & Liu, 2024).

Figura 3

Alteraciones pulmonares por exposición crónica a humo de tabaco y contaminantes



Nota: La exposición al humo del tabaco y a contaminantes atmosféricos puede provocar enfisema, caracterizado por la pérdida de elasticidad y destrucción de los alvéolos, y bronquitis crónica, marcada por inflamación bronquial e hipersecreción de moco; ambas patologías contribuyen al desarrollo de la EPOC.

Los principales mecanismos fisiopatológicos implicados en el desarrollo y progresión de la EPOC se explican a continuación.

INFLAMACIÓN: Los neutrófilos y macrófagos desempeñan un papel clave en la EPOC, mediando la respuesta al estrés oxidativo y el remodelado de las vías respiratorias. La exposición continua a agentes nocivos, como el humo del tabaco y la contaminación, activa las células inmunitarias innatas, que liberan mediadores proinflamatorios como el TNF- α , IL-6 e interleucina-8 (IL-8), lo que causa inflamación persistente y daño tisular. (Guo *et al.*, 2022; C.-L. Li & Liu, 2024; Rodrigues *et al.*, 2021).

ESTRÉS OXIDATIVO: resultado de un desequilibrio entre la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y las defensas antioxidantes. El humo del cigarrillo es una importante fuente de ROS, lo que resulta en daño celular y disfunción de las células

epiteliales de las vías respiratorias y en los macrófagos pulmonares. El estrés oxidativo es un factor clave en la patogénesis de la EPOC, ya que desencadena apoptosis, remodelación de la matriz extracelular, secreción de moco y activación de genes proinflamatorios (Rodrigues *et al.*, 2021). Además, agrava el desequilibrio entre proteasas y antiproteasas, lo que resulta en la degradación de la matriz extracelular y cambios enfisematosos propios de la enfermedad (C.-L. Li & Liu, 2024).

DESEQUILIBRIO PROTEASA-ANTIPROTEASA: ocurre cuando la actividad de las proteasas es excesiva y no se controla en los pulmones. Células inflamatorias liberan proteasas que dañan los tejidos al degradar proteínas de soporte de la matriz extracelular y alteran la estructura pulmonar. Para contrarestar esto, el organismo libera antiproteasas, como la alfa-1 antitripsina, que inhiben la actividad de las proteasas y protegen el tejido pulmonar. Sin embargo, los pacientes que padecen de déficit de A1AT quedan desprotegidos, aumentando el riesgo de desarrollar enfisema a una edad temprana (Viglio *et al.*, 2021).

SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA Y DISFUNCIÓN MITOCONDRIAL: las estimaciones de heredabilidad en la EPOC oscilan entre el 38 y el 50% (Lu *et al.*, 2024). Estudios del genoma completo (GWAS, por sus siglas en inglés) han identificado numerosas variantes genéticas relacionadas con el riesgo de EPOC. Estas incluyen genes involucrados en vías inflamatorias (IL-6, TNF- α) y procesos estructurales del sistema respiratorio, además de modificaciones epigenéticas como la metilación del ácido desoxirribonucleico (ADN) y la acetilación de histonas, que regulan la expresión génica en respuesta a exposiciones ambientales (C.-L. Li & Liu, 2024). Aunque se han identificado genes asociados con alteraciones estructurales e inflamatorias, aún se necesitan más estudios para descubrir nuevos determinantes genéticos y avanzar en la comprensión y manejo de la EPOC (Alfahad *et al.*, 2021).

En este mismo contexto molecular, también se ha descrito la participación de la disfunción mitocondrial en la progresión de la EPOC. Esta afecta la homeostasis energética celular y favorece el estrés oxidativo sistémico (Amado, Martín-Audera, Agüero, Lavín, *et al.*, 2023). En pacientes con EPOC, se ha observado una reducción de los niveles del péptido mitocondrial MOTS-c (*mitochondrial open reading frame of the 12S ribosomal RNA type-c*) y un aumento de Romo1 (*reactive oxygen species modulator*

1), lo que refleja un desequilibrio redox que se asocia con una menor capacidad funcional y una mayor desaturación de oxígeno durante el ejercicio (Amado *et al.*, 2022). Junto con humanina, MOTS-c actúa como mitocina reguladora de la respuesta antioxidante y del metabolismo muscular. Estas alteraciones mitocondriales definen un fenotipo clínico con peor pronóstico funcional (Amado, Martín-Audera, Agüero, Ferrer-Pargada, *et al.*, 2023).

1.1.9.2. Biomarcadores moleculares

1.1.9.2.1. EN SANGRE

Una estrategia mínimamente invasiva para evaluar la inflamación sistémica, el estrés oxidativo y las alteraciones moleculares asociadas con la patogénesis de la EPOC es el uso de biomarcadores en sangre. Biomarcadores inflamatorios como la PCR, el fibrinógeno y la proteína surfactante D están asociados con inflamación, declive de la función pulmonar (medido en FEV₁), hospitalizaciones y riesgo de exacerbaciones (C.-L. Li & Liu, 2024). Además, la PCR de alta sensibilidad se destaca como un marcador temprano incluso en casos leves de EPOC (Cazzola & Novelli, 2010). Estos hallazgos subrayan el papel de los biomarcadores en el desarrollo de estrategias personalizadas para el diagnóstico y tratamiento de la EPOC (Cazzola & Novelli, 2010).

1.1.9.2.2. EN ESPUTO

La recolección y análisis de esputo es una herramienta no invasiva clave para evaluar la inflamación de las vías respiratorias en la EPOC. Permite cuantificar células inflamatorias como neutrófilos y eosinófilos, mediadores inflamatorios (IL-8, mieloperoxidasa (MPO), citoquinas) y actividad de proteasas (C.-L. Li & Liu, 2024). Los eosinófilos elevados se asocian con mayor riesgo de exacerbaciones y mejor respuesta a corticosteroides, mientras que los neutrófilos se correlacionan negativamente con la función pulmonar (FEV₁). Además, el perfil proteómico y metabolómico del esputo muestra potencial para identificar firmas moleculares relacionadas con fenotipos y progresión de la EPOC, incluyendo marcadores como la interleucina 18 (IL-18), vinculado con limitación del flujo aéreo. Estos avances subrayan el valor del esputo como fuente de biomarcadores para diagnóstico y selección terapéutica (Cazzola & Novelli, 2010).

1.1.9.2.3. EN IMAGEN

Los biomarcadores por imágenes ofrecen herramientas no invasivas para evaluar alteraciones estructurales y funcionales del sistema respiratorio, además de monitorear la progresión de la EPOC. Técnicas como la tomografía computarizada (CT) permiten cuantificar la gravedad del enfisema, el grosor de las paredes de las vías respiratorias y la remodelación vascular pulmonar, facilitando la clasificación y caracterización fenotípica de la enfermedad. Métodos funcionales, como la tomografía por emisión de positrones (PET) y la resonancia magnética (MRI), proporcionan información detallada sobre la perfusión, ventilación e inflamación pulmonar, contribuyendo al diseño de tratamientos y al seguimiento de su eficacia.

1.1.9.3. Biomarcadores en las agudizaciones de EPOC

Las exacerbaciones son eventos que implican un aumento de la inflamación tanto en las vías respiratorias como a nivel sistémico. Sin embargo, su diagnóstico suele ser subjetivo debido a su naturaleza heterogénea y a la ausencia de pruebas diagnósticas específicas, lo que dificulta una evaluación clínica precisa y un manejo óptimo (Y.-W. R. Chen *et al.*, 2016). En este contexto, el desarrollo de biomarcadores como herramientas diagnósticas representa una solución prometedora para evaluar de manera más objetiva la actividad de la enfermedad.

En las exacerbaciones de la EPOC, estos biomarcadores pueden incluir moléculas derivadas directamente de un patógeno (como ácidos nucleicos) o productos de la respuesta del huésped, detectables en sangre o en secreciones respiratorias. La respuesta del huésped puede involucrar marcadores inflamatorios generales, como la PCR, o marcadores inmunitarios más específicos (Hoult *et al.*, 2022).

Un extenso estudio evaluó 36 moléculas en muestras de plasma obtenidas tanto en condiciones basales como durante una AEPOC, con el objetivo de localizar una que permitiese confirmar el diagnóstico de agudización. La molécula que fue identificada como más específica fue la PCR, aunque su sensibilidad y especificidad fueron limitadas al considerarse de forma aislada. Sin embargo, la combinación de la PCR con un síntoma principal de exacerbación presente en ese día (como disnea, aumento del volumen de

esputo o su purulencia) mejoró significativamente tanto la sensibilidad como la especificidad del diagnóstico (Hurst *et al.*, 2006).

Otra molécula que ha sido estudiada como posible biomarcador en el contexto de las exacerbaciones de la EPOC es la procalcitonina (PCT). Su utilidad radica en la capacidad para diferenciar entre exacerbaciones de origen bacteriano y aquellas de etiología no bacteriana. Niveles elevados de procalcitonina en pacientes en una AEPOC pueden indicar una infección bacteriana subyacente, lo que puede guiar la decisión de iniciar o intensificar la terapia antibiótica. Además, también están relacionados con un mayor riesgo de mortalidad (Qiyuan *et al.*, 2024). Sin embargo, es importante considerar que los niveles de PCT pueden verse influenciados por diversos factores, y su interpretación debe realizarse en el contexto clínico individual de cada paciente (Sivapalan & Jensen, 2022).

La relación entre biomarcadores en sangre y las imágenes obtenidas durante una exacerbación de EPOC también ha sido objeto de estudio. Alotaibi *et al.* analizaron el uso de la PCR y el propéptido natriurético cerebral N-terminal tipo B (NT-proBNP), junto con técnicas de imagen como radiografías y CT, para fenotipar exacerbaciones de la EPOC. Sus hallazgos muestran que niveles elevados de PCR se asocian con inflamación pulmonar, como neumonía, mientras que niveles altos de NT-proBNP están relacionados con disfunción cardíaca y edema pulmonar. Estas herramientas podrían facilitar una caracterización más precisa de las exacerbaciones y optimizar las decisiones terapéuticas (Alotaibi *et al.*, 2018).

Entre los biomarcadores emergentes destaca el *Monocyte Distribution Width* (MDW), un parámetro automatizado derivado del hemograma que ha mostrado utilidad en la detección de inflamación sistémica. En el contexto de la EPOC, el MDW se ha propuesto como herramienta complementaria para identificar pacientes con exacerbaciones agudas y fenotipos de mayor riesgo clínico, al estar asociado con una respuesta inmunitaria desregulada (Amado *et al.*, 2024). Asimismo, se ha explorado el papel de las señales mitocondriales circulantes durante las exacerbaciones. En un estudio prospectivo, se observaron alteraciones significativas en péptidos mitocondriales como MOTS-c y Romo1, cuyos niveles se encontraron desregulados al ingreso hospitalario por

AEPOC, reflejando un desequilibrio redox sistémico con posibles implicaciones pronósticas (Amado, Martín-Audera, Agüero, Ferrer-Pargada, *et al.*, 2023).

A pesar de los numerosos estudios publicados en las últimas décadas en busca de biomarcadores para las exacerbaciones de la EPOC, casi 20 años después del trabajo de Hurst *et al.*, la PCR continúa siendo el biomarcador principal disponible para evaluar estas exacerbaciones (Hoult *et al.*, 2022). Por tanto, es esencial seguir investigando para comprender mejor los mecanismos de las exacerbaciones de la EPOC y desarrollar biomarcadores más específicos (Wedzicha & Seemungal, 2007).

En este contexto, uno de los aspectos emergentes más relevantes es el papel de la deficiencia de hierro sin anemia, una condición cada vez más reconocida en la EPOC y otras enfermedades crónicas.

1.2. DÉFIFIT DE HIERRO SIN ANEMIA

El hierro es un micronutriente esencial que participa en procesos clave como el transporte de oxígeno, la respiración mitocondrial, la síntesis de ADN y la función inmunitaria. Su homeostasis es un proceso finamente regulado, particularmente relevante en condiciones de hipoxemia crónica como EPOC (Pizzini *et al.*, 2020). En este contexto, la deficiencia de hierro sin anemia (NAID, por sus siglas en inglés) ha emergido como un fenotipo clínico de interés creciente (Boutou *et al.*, 2015).

La NAID se define por la existencia de reservas de hierro bajas en ausencia de anemia y se ha relacionado con alteraciones en el metabolismo muscular, la función mitocondrial y la tolerancia al ejercicio (Barberan-Garcia *et al.*, 2015; Martín-Ontiyuelo *et al.*, 2019). En los últimos años, se ha propuesto que la evaluación del hierro no debe limitarse a su papel en la eritropoyesis, sino que debe considerar también su disponibilidad real en los tejidos, especialmente en órganos como el músculo esquelético, el miocardio y el pulmón (Lakhal-Littleton & Cleland, 2024). Este enfoque fisiológico prioriza la biodisponibilidad tisular del hierro, frente a los marcadores hematológicos tradicionales como la ferritina o la hemoglobina, lo que podría tener implicaciones relevantes en la EPOC, donde la hipoxia crónica y la inflamación sistémica afectan de manera diferencial su distribución y utilización.

En este sentido, se ha sugerido que una redefinición del diagnóstico de la deficiencia férrica debería incorporar marcadores de biodisponibilidad tisular, como la hepcidina o el receptor soluble de transferrina (sTfR1), para identificar más eficazmente a los pacientes con riesgo funcional aun sin anemia manifiesta (Lakhal-Littleton & Cleland, 2024).

En este contexto, la NAID ha demostrado ser relevante también en pacientes con EPOC, donde se asocia con menor tolerancia al ejercicio, disnea y alteraciones musculares (Hardang *et al.*, 2024). Aunque este fenotipo fue descrito inicialmente en el contexto de la insuficiencia cardíaca, donde su tratamiento mejora la capacidad funcional (Okonko *et al.*, 2008), su presencia en EPOC podría implicar mecanismos fisiopatológicos similares, relacionados con la hipoxia y la inflamación sistémica.

Estudios recientes indican que hasta un 40% de los pacientes con EPOC estable pueden presentar NAID, especialmente en presencia de inflamación sistémica de bajo grado (Hardang *et al.*, 2024). En esta población, la NAID se ha relacionado con una menor tolerancia al ejercicio, mayor disnea, menor capacidad de difusión pulmonar para el monóxido de carbono (DLCO) y concentraciones de hemoglobina que, si bien se mantienen en dentro del rango normal, tienden a situarse en su límite inferior (Barberan-Garcia *et al.*, 2015; Pizzini *et al.*, 2020). Esta situación podría reducir ligeramente la capacidad global de transporte de oxígeno, esto adquiere especial relevancia en un contexto de enfermedad respiratoria crónica e inflamación persistente como la EPOC.

Además, la hipoxemia crónica puede inducir una desregulación en el eje eritropoyetina–hierro, provocando una producción inadecuada de eritrocitos pese a niveles elevados de eritropoyetina circulante. Esta disociación funcional entre la estimulación eritropoyética y la biodisponibilidad de hierro ha sido descrita como un mecanismo clave en la patogenia de la NAID en pacientes con EPOC, y contribuye al desarrollo de fatiga, esfuerzo limitado y una respuesta hematopoyética ineficiente (Rezvani *et al.*, 2023).

Asimismo, la NAID puede coexistir con alteraciones en el metabolismo muscular, como la pérdida de masa magra y la debilidad funcional. En este contexto, se ha propuesto una posible interacción con mecanismos de ferroptosis, una forma de muerte celular

dependiente del hierro, que podría contribuir a la disfunción muscular observada en algunos pacientes con EPOC. Aunque esta asociación aún no ha sido confirmada en estudios clínicos, el aumento de los niveles séricos del sTfR1 se ha propuesto como un marcador de depleción férrica tisular y de baja masa muscular, y ha mostrado correlaciones negativas con la distancia recorrida en el test de marcha de seis minutos y con la desaturación de oxígeno durante el ejercicio (Hardang *et al.*, 2024; Martín-Ontiyuelo *et al.*, 2019).

Desde el punto de vista pronóstico, la NAID se ha relacionado con una menor respuesta a la rehabilitación pulmonar (Barberan-Garcia *et al.*, 2015), mayor riesgo de exacerbaciones moderadas y graves, e incluso con un mayor riesgo de hospitalización durante el seguimiento a 12 meses (Hardang *et al.*, 2024). Estos hallazgos refuerzan la necesidad de considerar la deficiencia de hierro, incluso en ausencia de anemia, como un biomarcador clínicamente relevante en la estratificación del riesgo y manejo terapéutico de la EPOC.

Sin embargo, la ausencia de criterios diagnósticos uniformes y la superposición entre diferentes tipos de deficiencia férrica (funcional, absoluta o combinada) dificultan su identificación en la práctica clínica. El uso combinado de parámetros como la ferritina, la saturación de transferrina (TSAT) y el índice sTfR1/log-ferritina ha sido propuesto como una herramienta útil para diferenciar perfiles clínicos y orientar la suplementación férrica en poblaciones seleccionadas (Abbasí *et al.*, 2024; Pizzini *et al.*, 2020).

Este índice permite detectar situaciones de deficiencia funcional que podrían pasar desapercibidas si se evaluara únicamente la ferritina, ya que esta puede elevarse artificialmente en contextos inflamatorios. La elevación del sTfR1 refleja una mayor demanda férrica a nivel celular, y su relación con las reservas corporales, expresada mediante la ferritina en escala logarítmica, mejora la capacidad para identificar desequilibrios en la disponibilidad de hierro tisular (Abbasí *et al.*, 2024; Pizzini *et al.*, 2020).

En conjunto, la NAID representa una condición clínica frecuente y potencialmente modificable, con implicaciones fisiopatológicas y pronósticas relevantes en la EPOC. Su evaluación sistemática podría contribuir a mejorar los resultados funcionales y reducir

eventos adversos en estos pacientes, especialmente en aquellos con evidencia de inflamación crónica, hipoxemia o pérdida de masa muscular (Hardang *et al.*, 2024; Martín-Ontiyuelo *et al.*, 2019).

En este sentido, ha cobrado relevancia la hipótesis de que el desequilibrio en el metabolismo del hierro no solo compromete la función muscular y el rendimiento físico, sino que también podría activar mecanismos patológicos como la ferroptosis. Esta forma de muerte celular dependiente del hierro ha sido propuesta como un nexo entre la disfunción mitocondrial, la pérdida de masa magra y otras manifestaciones sistémicas observadas en la EPOC, abriendo nuevas posibilidades para la identificación de biomarcadores y dianas terapéuticas (Rezvani *et al.*, 2023).

El trabajo de Lakhal-Littleton & Cleland, 2024 refuerza esta idea al mostrar que el hierro intracelular actúa como modulador de rutas redox y del estrés oxidativo mitocondrial, creando un entorno propicio para la activación de la ferroptosis (Lakhal-Littleton & Cleland, 2024). Esta visión integrada abre nuevas posibilidades para la identificación de biomarcadores tisulares y el diseño de estrategias terapéuticas centradas no solo en la reposición férrica, sino también a la regulación del metabolismo mitocondrial y la prevención de daño celular mediado por hierro.

1.3. FERROPTOSIS Y EPOC

1.3.1. LA FERROPTOSIS: DEFINICIÓN

La muerte celular regulada desempeña un papel fundamental en el desarrollo y la homeostasis del organismo. Este proceso puede ocurrir a través de la apoptosis o mediante diversas vías alternativas de muerte celular no apoptótica, entre las cuales se encuentra la ferroptosis (Cao & Dixon, 2016), un mecanismo descrito hace poco más de una década.

La ferroptosis es una forma de muerte celular programada, distinta de la apoptosis, caracterizada por la peroxidación de lípidos de membrana dependiente del hierro (Dixon & Olzmann, 2024). Este proceso es impulsado por la interacción entre hierro libre u ionizado (Fe^{2+}), oxígeno y fosfolípidos poliinsaturados, lo que provoca la acumulación de hidroperóxidos lipídicos y, en última instancia, la ruptura de la membrana plasmática

(Berndt *et al.*, 2024). Se distingue de otras formas de muerte celular por su dependencia del metabolismo del hierro y el equilibrio redox, y ha sido identificado como un mecanismo clave en diversas enfermedades, incluyendo el cáncer, enfermedades neurodegenerativa, diabetes mellitus y daño por isquemia-reperfusión, entre otras (Berndt *et al.*, 2024).

1.3.2. MECANISMO BIOQUÍMICO

La ferroptosis puede activarse en respuesta a distintos estímulos, como la exposición a toxinas, la privación de nutrientes y el estrés oxidativo. Durante este proceso, el hierro libre reacciona con el peróxido de hidrógeno y los peróxidos lipídicos, generando especies reactivas de oxígeno. Esto desencadena la peroxidación de los lípidos de membrana, especialmente de los ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs) presentes en fosfolípidos, comprometiendo su integridad estructural y, en última instancia, conduciendo a la muerte celular (C. Wang *et al.*, 2023; H. fa Yan *et al.*, 2021).

Los eventos bioquímicos que impulsan este proceso incluyen numerosas vías metabólicas, de las cuales todavía existen importantes lagunas de conocimiento (Berndt *et al.*, 2024). Por su especial interés señalamos aquellas en las que vamos a centrar este trabajo, aunque se conocen muchas más:

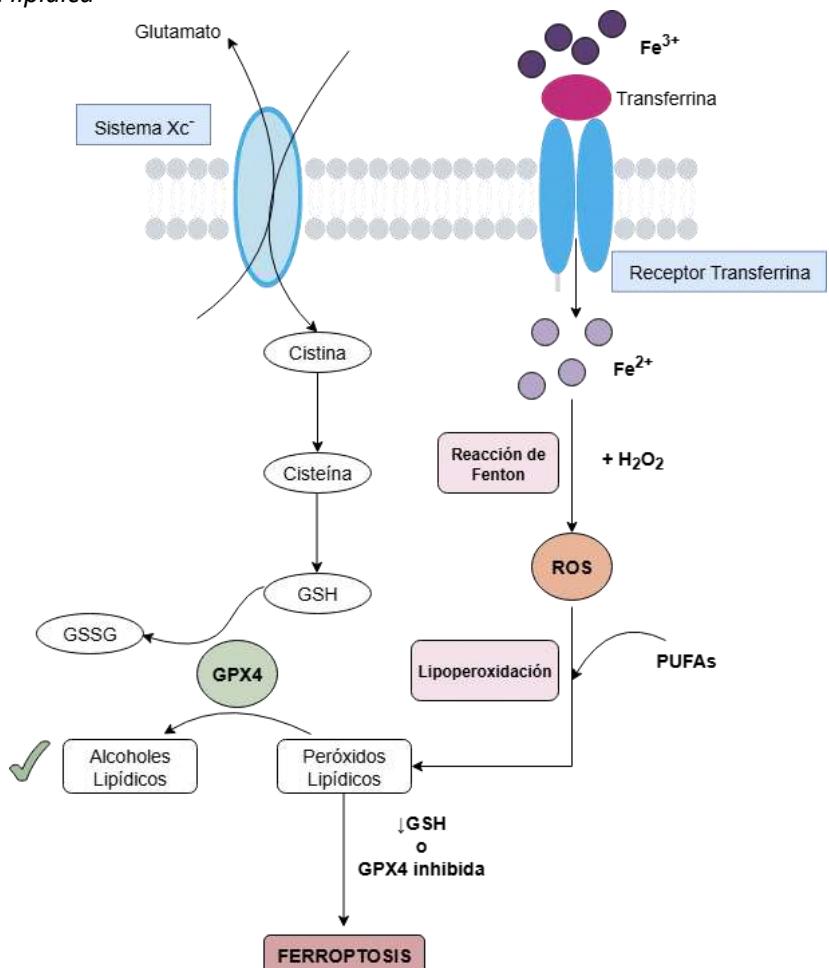
- 1. Agotamiento del glutatión y disminución de glutatión peroxidasa 4:** El glutatión (GSH) es un antioxidante esencial para la protección celular contra el daño oxidativo. Su síntesis depende de la captación de cistina a través del Sistema Xc⁻, un intercambiador de aminoácidos que importa cistina a cambio de glutamato. Dentro de la célula, la cistina se convierte en cisteína, un aminoácido fundamental para mantener los niveles de GSH intracelulares. La glutatión peroxidasa 4 (GPX4) es la principal enzima que protege a la célula contra la peroxidación lipídica de la membrana celular, ya que reduce los peróxidos lipídicos a alcoholes menos tóxicos, utilizando GSH como cofactor. Cuando la captación de cisteína extracelular o la síntesis intracelular se ve comprometida o la actividad de GPX4 disminuye, ya sea por inhibición directa o por agotamiento de GSH, las células se vuelven altamente vulnerables a la ferroptosis debido a la acumulación descontrolada de peróxidos lipídicos (Berndt *et al.*, 2024; H. fa Yan *et al.*, 2021).

2. **Homeostasis del hierro y reacción de Fenton:** La ferroptosis está estrechamente relacionada con el metabolismo del hierro. Un aumento de Fe^{2+} libre en la célula, ya sea por degradación de la ferritina (ferritinofagia) o por una mayor captación hierro férrico (Fe^{3+}) por receptores de transferrina, promueve la reacción de Fenton. En esta reacción, el Fe^{2+} reacciona con peróxido de hidrógeno (H_2O_2) para generar radicales hidroxilo altamente reactivos. Estas ROS atacan los PUFAs de los fosfolípidos de membrana, iniciando así la lipoperoxidación o peroxidación lipídica (Berndt *et al.*, 2024).
3. **Peroxidación de los fosfolípidos de membrana:** La oxidación de los ácidos grasos poliinsaturados en los fosfolípidos de membrana es el evento clave en la ferroptosis. La peroxidación lipídica es un proceso en cadena iniciado por la formación de radicales libres en los fosfolípidos, los cuales reaccionan con el oxígeno molecular y propagan el daño a lípidos adyacentes localizados en la membrana celular. Enzimas como las lipoxigenasas (LOX) y la acil-CoA sintetasa de larga cadena 4 (ACSL4) favorecen la incorporación de PUFAs oxidable a las membranas, amplificando la susceptibilidad a la ferroptosis (Berndt *et al.*, 2024; H. fa Yan *et al.*, 2021).

En resumen, la ferroptosis se caracteriza por la interrupción de los sistemas antioxidantes celulares, particularmente por el agotamiento del GSH y la inhibición de la enzima GPX4, lo que impide la detoxificación de los peróxidos lipídicos acumulados en las membranas. Esta disfunción redox favorece la acumulación de lípidos oxidados derivados de ácidos grasos poliinsaturados. Paralelamente, el hierro ferroso (Fe^{2+}), a través de reacciones tipo Fenton, cataliza la producción de ROS, amplificando el daño lipídico y provocando una pérdida irreversible de la integridad de la membrana celular (Pan *et al.*, 2022) (Figura 4).

Figura 4

Esquema de la ferroptosis: interacción entre captación de hierro, metabolismo del glutatión y peroxidación lipídica



Nota. GSH: glutatión reducido; GSSG: glutatión oxidado (glutatióndisulfuro); GPX4: glutatión peroxidasa 4; ROS: especies reactivas de oxígeno; Fe^{3+}/Fe^{2+} : hierro férrico / hierro ferroso; PUFAs: ácidos grasos poliinsaturados. El esquema representa la cascada molecular que conduce a la ferroptosis.

La vía se inicia con la importación de cistina al interior celular a través del Sistema Xc^- a cambio de la salida de glutamato. Una vez en el citoplasma, la cistina es reducida a cisteína, un precursor esencial para la síntesis de GSH. Este actúa como cofactor de la enzima GPX4, encargada de reducir los peróxidos lipídicos a alcoholos lipídicos, no tóxicos. Esta reacción permite evitar la acumulación de productos de lipoperoxidación y, por tanto, previene la progresión hacia ferroptosis.

Paralelamente, la célula capta Fe^{3+} a través del complejo transferrina–receptor de transferrina, el cual es reducido a Fe^{2+} en el citosol. Este hierro puede participar en la reacción de Fenton, generando ROS altamente tóxicas. Estas ROS promueven la peroxidación lipídica de los fosfolípidos de membrana.

Cuando GPX4 es inhibida o el GSH es insuficiente, los peróxidos lipídicos se acumulan y la célula progresará hacia ferroptosis.

1.3.2.1. Reguladores transcripcionales y ferroptosis

Diversas vías metabólicas y orgánulos celulares, como las mitocondrias, el retículo endoplasmático y los peroxisomas, regulan la sensibilidad a la ferroptosis al modular el metabolismo del hierro, los lípidos y el equilibrio redox. No obstante, la susceptibilidad a esta forma de muerte celular varía según el tipo celular y las condiciones en las que se produce. Además, reguladores transcripcionales como el factor de transcripción relacionado con la eritropoyetina 2 (NRF2, por sus siglas en inglés) y p53 coordinan múltiples rutas metabólicas para ajustar la respuesta celular a la ferroptosis de manera global (Dixon & Olzmann, 2024).

El factor de transcripción NRF2 es un regulador clave de la homeostasis redox celular. Su activación en respuesta al estrés oxidativo induce la expresión de antioxidantes y enzimas que protegen a las células del daño causado por las especies reactivas de oxígeno (Figura 5). En el contexto de la ferroptosis, NRF2 atenúa la peroxidación lipídica principalmente mediante la regulación positiva de GPX4. La inhibición de NRF2, como se ha demostrado en modelos de esferoides de cáncer de pulmón, aumenta significativamente la sensibilidad celular a la ferroptosis, lo que indica que la disfunción de esta vía puede agravar el daño celular bajo condiciones de estrés oxidativo severo (Takahashi *et al.*, 2020).

Además de su papel en la protección contra la peroxidación lipídica, NRF2 también regula la homeostasis del hierro al controlar genes involucrados en la síntesis y degradación de ferritina. En células tumorales con alta expresión de NRF2, este factor de transcripción favorece una distribución más controlada del hierro, reduciendo la disponibilidad de hierro libre y, por tanto, limitando la reacción de Fenton y la generación de ROS (Anandhan *et al.*, 2023).

Más allá de GPX4 y el metabolismo del hierro, NRF2 regula genes clave implicados en la producción de nicotinamida adenina dinucleótido fosfato reducido (NADPH) y en el reciclaje del GSH. Estos procesos metabólicos son fundamentales para mantener un sistema antioxidante funcional, ya que NADPH permite la regeneración de GSH a partir de su forma oxidada (GSSG), lo cual es esencial para la acción continua de GPX4 (B. Wang *et al.*, 2023). En particular, estimula la producción de NADPH a través de la vía de las

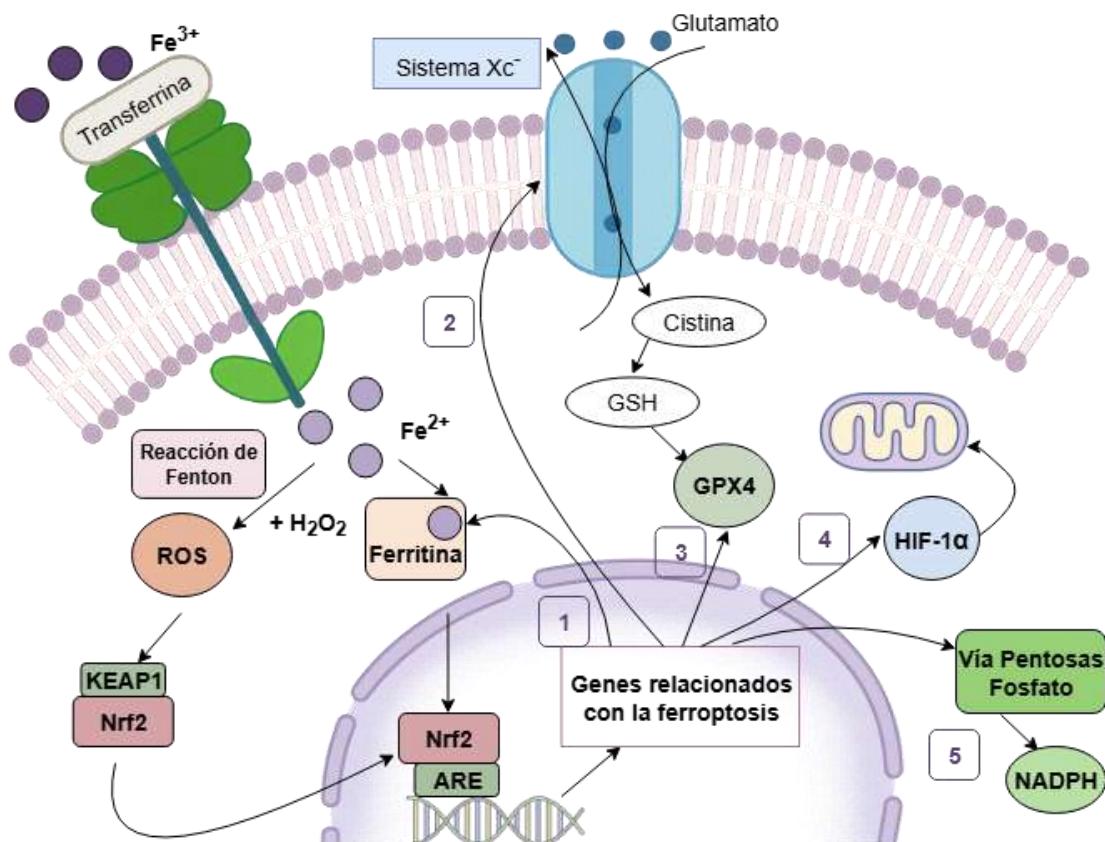
pentosas fosfato, y promueve la síntesis de glutatión al inducir la expresión del gen *SLC7A11* (*Solute Carrier Family 7 Member 11*, por sus siglas en inglés), que codifica la subunidad funcional del sistema transportador Xc⁻. También modula la actividad mitocondrial al activar la expresión del factor inducible por hipoxia 1α (HIF-1α), lo que ayuda a reducir la producción de ROS, reforzando así la defensa frente a la ferroptosis (Babaei-Abraki *et al.*, 2023).

Sin embargo, la función protectora de NRF2 puede presentar un aspecto ambivalente. Uno de sus genes diana, la enzima hemo oxigenasa-1 (HO-1), participa en la degradación del grupo hemo, liberando biliverdina, monóxido de carbono y hierro ferroso (Fe²⁺). Si bien esta actividad es antioxidante en condiciones controladas, una activación excesiva de HO-1 puede provocar una sobrecarga de Fe²⁺ intracelular, lo que paradójicamente favorece la reacción de Fenton y promueve la ferroptosis (B. Wang *et al.*, 2023).

Aunque gran parte de la investigación sobre NRF2 se ha centrado en su papel en el cáncer, su implicación en enfermedades pulmonares como la EPOC también es significativa. El estrés oxidativo crónico en los pulmones podría alterar la actividad de NRF2, contribuyendo al daño celular y acelerando la progresión de la enfermedad. En este contexto, NRF2 se presenta como una diana terapéutica dual: su activación podría atenuar el daño oxidativo pulmonar en patologías como la EPOC, mientras que su inhibición podría ser útil para inducir ferroptosis en contextos oncológicos caracterizados por resistencia al estrés oxidativo (Takahashi *et al.*, 2020).

Figura 5

Representación esquemática de la acción protectora del factor de transcripción relacionado con la eritropoyetina 2 (NRF2) frente a la ferroptosis



Nota. Bajo condiciones de estrés oxidativo, como la presencia de especies reactivas de oxígeno (ROS), NRF2 se libera del complejo citosólico con KEAP1 (*Kelch-like ECH-associated protein 1*) y se transloca al núcleo, donde se une al elemento respuesta antioxidante (ARE), promoviendo la transcripción de genes implicados en la resistencia a la ferroptosis. A continuación, se explican las diversas vías: 1) Aumento de ferritina y disminución del hierro libre, limitando la reacción de Fenton. 2) Inducción de la expresión del gen que codifica la subunidad funcional del sistema Xc^- que permite la entrada de cistina para la síntesis de glutatión (GSH). 3) Promoción de la expresión de la glutatión peroxidasa 4 (GPX4). 4) Activación del factor inducible por hipoxia 1α (HIF- 1α), que modula el metabolismo mitocondrial y reduce la producción de ROS. 5) Estimulación de la vía de las pentosas fosfato, que genera nicotinamida adenina dinucleótido fosfato reducido (NADPH), esencial para mantener el GSH en su forma activa.

En conjunto, estas rutas coordinadas reducen los niveles de ROS, bloquean la peroxidación lipídica y preservan la integridad de las membranas celulares. De este modo, NRF2 actúa como un regulador clave en la defensa frente a la ferroptosis en enfermedades como la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), donde el estrés oxidativo es persistente. Adaptada de Babaei-Abraki *et al.*, 2023.

El p53 es un factor de transcripción fundamental en la regulación de la muerte celular, especialmente en respuesta al estrés oxidativo, donde modula procesos como la detención del ciclo celular, la apoptosis y la senescencia. En el contexto de la ferroptosis, p53 actúa como un regulador clave, tanto promoviendo como inhibiendo este tipo de muerte celular según el contexto. Entre sus mecanismos pro-ferroptóticos destaca la represión de *SLC7A11*, un transportador de cistina esencial para la homeostasis del glutatión, cuya limitación reduce la síntesis de glutatión y, en consecuencia, disminuye la actividad de GPX4 (Y. Liu & Gu, 2022; R. Xu *et al.*, 2023), lo que favorece la acumulación de especies reactivas de oxígeno y peróxidos lipídicos (Pan *et al.*, 2022). Asimismo, p53 potencia la peroxidación lipídica mediante la activación de lipoxygenasas, que oxidan ácidos grasos poliinsaturados (Y. Liu & Gu, 2022; R. Xu *et al.*, 2023).

Si bien en los últimos años se ha avanzado en la comprensión de la ferroptosis, aún persisten interrogantes sobre su activación, regulación y papel en diversas enfermedades. La investigación en este campo continúa explorando su relevancia en patologías asociadas al estrés oxidativo y al metabolismo del hierro, con el objetivo de desarrollar nuevas estrategias terapéuticas basadas en su modulación (Berndt *et al.*, 2024).

1.3.3. FERROPTOSIS Y EPOC

Evidencias recientes han identificado la ferroptosis como un mecanismo clave en la patogénesis de la EPOC, particularmente en respuesta a la exposición crónica al humo de cigarrillo (CS) y contaminantes ambientales. Esta forma de muerte celular desempeña un papel central en el daño estructural de las células epiteliales pulmonares y en la progresión del enfisema asociado a enfermedad (Meng *et al.*, 2023).

No obstante, la implicación de la ferroptosis en la EPOC trasciende el epitelio broncoalveolar. Diversas investigaciones han identificado su activación también en macrófagos, células endoteliales, células musculares lisas vasculares e incluso en fibras musculares estriadas, tanto torácicas como extratorácicas. Estos hallazgos apuntan a una ferroptosis de alcance sistémico, amplificando su impacto clínico más allá del sistema respiratorio (L. Zhang *et al.*, 2022).

1.3.3.1. Estrés oxidativo y metabolismo del hierro en la ferroptosis pulmonar

Los pulmones de fumadores crónicos presentan una acumulación anómala de hierro, impulsada por la ferritinofagia, un proceso selectivo de autofagia que degrada la ferritina y libera hierro libre en el citosol. En estos individuos, la ferritinofagia mediada por el coactivador nuclear del receptor 4 (NCOA4) se encuentra exacerbada, lo que aumenta la disponibilidad de Fe^{2+} . Esta liberación no regulada de hierro potencia la reacción de Fenton, generando especies reactivas de oxígeno altamente tóxicas que inducen peroxidación lipídica en las células epiteliales pulmonares, comprometiendo su integridad y acelerando la ferroptosis (J. Liu *et al.*, 2022). En conjunto, este mecanismo contribuye a la muerte celular ferroptótica y al desarrollo de enfisema (Yoshida *et al.*, 2019).

Estudios en células epiteliales bronquiales humanas y murinas han demostrado que la exposición al CS incrementa las concentraciones de hierro libre, ferritina sérica y hierro no hemo (almacenado en ferritina y hemosiderina), favoreciendo la ferroptosis (Ghio *et al.*, 2008; Zi *et al.*, 2023). Por otro lado, estudios en modelos animales han demostrado que la administración intravenosa de hierro incrementa el estrés oxidativo pulmonar (Bailie *et al.*, 2013).

Además del tabaco, diversos factores ambientales, como la contaminación del aire, también pueden alterar la homeostasis del hierro pulmonar y agravar el estrés oxidativo. En este sentido, se ha observado que la inhalación de nanopartículas de Fe_2O_3 , componente frecuente de la contaminación atmosférica urbana, en ratones induce la producción de ROS en el tejido pulmonar, exacerbando el daño celular (Askri *et al.*, 2019). De forma similar, estudios recientes han demostrado que los microplásticos, en particular los de poliestireno, se acumulan en los pulmones de pacientes con EPOC, promoviendo disfunción mitocondrial, acumulación de hierro y sobreproducción de especies reactivas de oxígeno mitocondriales, lo cual potencia la ferroptosis dependiente de autofagia y contribuye a la exacerbación aguda de la enfermedad (Wei *et al.*, 2025).

1.3.3.2. Peroxidación lipídica y daño celular

La peroxidación lipídica es el evento clave en la ferroptosis pulmonar. La oxidación de los ácidos grasos poliinsaturados genera productos tóxicos como malondialdehído (MDA) y 4-hidroxi-2-nonenal (4-HNE), los cuales degradan la membrana celular y comprometen su estabilidad estructural (Ayala *et al.*, 2014).

Estudios han encontrado que el tabaquismo incrementa significativamente la peroxidación lipídica. En Alemania, se reportó una correlación entre los niveles de cotinina plasmática (biomarcador del consumo de tabaco) y la concentración de 8-iso-prostaglandina F_{2α} (8-iso-PGF_{2α}) en orina, un indicador de estrés oxidativo (Gao *et al.*, 2017).

Además del tabaco, la exposición a contaminantes como monóxido de carbono, óxidos de nitrógeno y partículas ultrafinas (PM0.18) está estrechamente relacionada con el aumento de MDA en sangre, lo que sugiere que la contaminación del aire agrava la inflamación pulmonar y el estrés oxidativo (Xian Zhang *et al.*, 2016).

1.3.3.3. Regulación de la ferroptosis en la EPOC

1.3.3.3.1. GPX4 y su papel en la ferroptosis pulmonar (Yoshida *et al.*, 2019)

La GPX4 desempeña un papel fundamental en la protección contra la ferroptosis, ya que reduce los peróxidos lipídicos utilizando glutatión como cofactor. En modelos murinos de EPOC inducida por CS, la exposición al humo de cigarrillo provoca:

- un incremento en la acumulación de hierro libre,
- un aumento en la peroxidación lipídica,
- y una reducción en la expresión de GPX4.

Estos hallazgos sugieren que la disminución de GPX4 agrava el daño pulmonar al permitir la acumulación incontrolada de peróxidos lipídicos.

1.3.3.3.2. PM2.5 y ferroptosis

El material particulado PM2.5, un contaminante ambiental bien documentado en enfermedades respiratorias, también induce ferroptosis en la EPOC (Yin *et al.*, 2023). Estudios en células endoteliales humanas expuestas a PM2.5 han demostrado:

- un aumento del contenido de hierro libre,
- un incremento de ROS,
- una disminución de GSH y NADPH,
- y una alteración en la expresión del receptor de transferrina (TfR) y la ferritina, generando un desequilibrio en la homeostasis del hierro.

Estos datos refuerzan la hipótesis de que el estrés oxidativo y la disrupción del metabolismo del hierro desempeñan un papel central en la progresión de la EPOC (Yoshida *et al.*, 2019).

1.3.3.4. Evidencia experimental sobre el papel de la ferroptosis en la EPOC

En un estudio reciente realizado por Tang *et al.*, se demostró que la exposición al extracto de humo de cigarrillo (CSE, por sus siglas en inglés) en células epiteliales bronquiales humanas y en modelos animales induce cambios característicos de la ferroptosis, tales como el aumento en los niveles de MDA y ROS; el incremento en la concentración de hierro libre, y la disminución de GPX4 y ferritina, acompañada de un incremento en el receptor de transferrina. Además, se observó un aumento en los niveles de citoquinas inflamatorias como IL-6 y TNF- α , lo que sugiere que la ferroptosis está asociada tanto con el daño celular como con la inflamación en el pulmón (Tang *et al.*, 2021).

Al someter a estos cultivos a tratamiento con inhibidores de la ferroptosis se observó una mitigación del daño celular y la inflamación, lo que sugiere que la inhibición de la ferroptosis podría ser una estrategia terapéutica para tratar las enfermedades pulmonares inducidas por el humo del cigarro, como la EPOC (Tang *et al.*, 2021).

Por otra parte, Li *et al.* identificaron que la disfunción de las proteínas antioxidantes en los pulmones, como GPX4, y la disminución de la ferritina, se ve exacerbada por la

exposición al humo del cigarrillo, lo que aumenta la susceptibilidad de las células pulmonares a la ferroptosis. Además, se observó que la regulación de las vías de señalización que controlan el metabolismo del hierro, incluyendo las mediadas por el receptor de transferrina, juegan un papel crucial en la progresión del daño pulmonar (C. Li *et al.*, 2023).

1.3.4. FERROPTOSIS E INFECCIONES RESPIRATORIAS

La ferroptosis ha sido revelada como un mecanismo crucial en la patogénesis de infecciones respiratorias de distinta etiología (bacteriana, viral y fúngica). Las infecciones respiratorias recurrentes, frecuentes en pacientes con EPOC, inducen una serie de alteraciones moleculares que favorecen la activación de la ferroptosis en el epitelio pulmonar. En modelos *in vitro*, se ha observado que la ferroptosis desempeña un papel clave en este contexto, ya que las condiciones inflamatorias y oxidativas generadas durante la infección favorecen la acumulación de hierro libre y la peroxidación de lípidos en el epitelio pulmonar, creando un entorno propicio para su activación (Dar *et al.*, 2018).

Diversos estudios han demostrado que patógenos respiratorios como *Pseudomonas aeruginosa* o *Mycobacterium tuberculosis* pueden inducir ferroptosis como parte de su estrategia de patogenicidad (Amaral *et al.*, 2019; Dar *et al.*, 2018). En el caso de *P. aeruginosa*, se ha identificado una lipoxigenasa bacteriana (pLoxA) capaz de oxidar los fosfolípidos poliinsaturados presentes en las células del huésped, generando productos que actúan como señales pro-ferroptóticas. Esta inducción patógena de ferroptosis facilita la disrupción del epitelio bronquial humano, comprometiendo la integridad de la barrera respiratoria y contribuyendo a la persistencia bacteriana en enfermedades como la fibrosis quística y, posiblemente, en la EPOC, especialmente en pacientes con infecciones recurrentes y colonización crónica. Se ha observado que el crecimiento en biofilm de cepas clínicas de *P. aeruginosa* aumenta la expresión de pLoxA y potencia su capacidad para inducir ferroptosis en el epitelio respiratorio (Dar *et al.*, 2018).

Por otro lado, en el contexto de infecciones por *M. tuberculosis*, se ha demostrado que la muerte necrótica de macrófagos infectados está asociada a características típicas de ferroptosis, como el agotamiento de glutatión, la disminución de GPX4, el aumento de

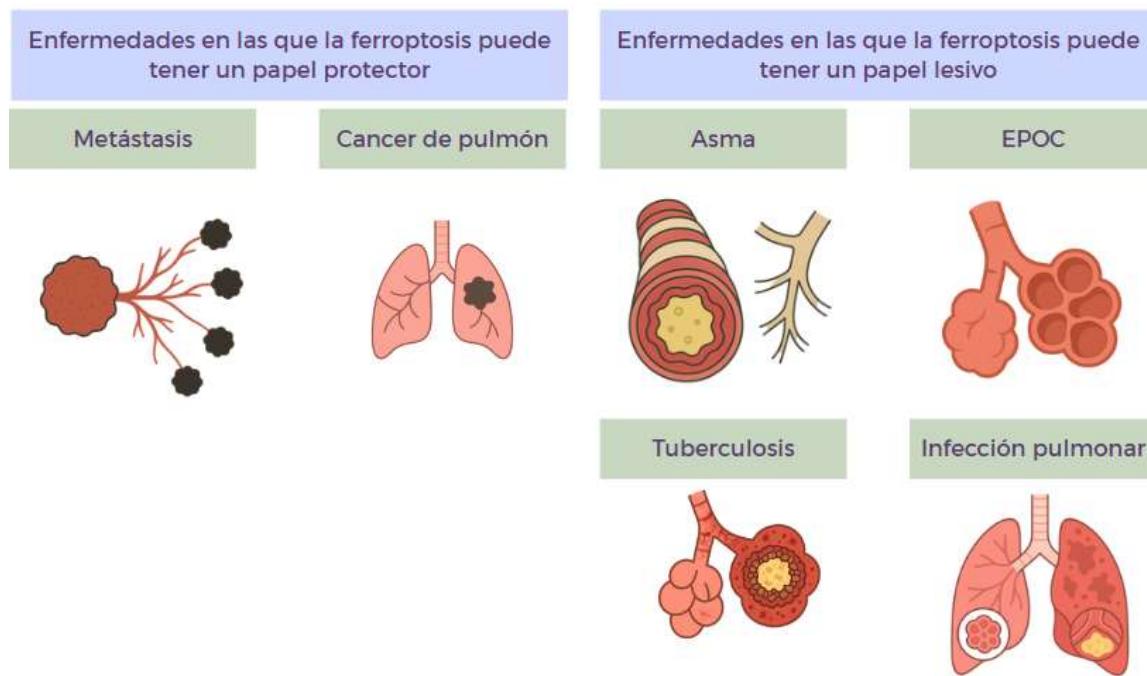
hierro libre y la acumulación de lípidos peroxidados. Esta forma de muerte celular no solo favorece la diseminación del bacilo, sino que también intensifica el daño tisular pulmonar. La inhibición farmacológica de la ferroptosis en modelos animales ha demostrado no solo reducir la necrosis pulmonar inducida por la infección, sino también disminuir la carga bacteriana, lo que sugiere que se trata de un proceso funcionalmente implicado en la patogénesis, y no meramente de una consecuencia secundaria (Amaral *et al.*, 2019).

En el contexto de infecciones virales, la COVID-19 ha mostrado perfiles de estrés oxidativo que incluyen niveles elevados de ferritina sérica, superóxidos, y peroxidación lipídica, junto con una marcada disminución de GSH y GPX4, lo cual sugiere que la ferroptosis podría contribuir al daño pulmonar y multiorgánico observado en pacientes graves. Además, alteraciones en el metabolismo del hierro y su sobrecarga han sido asociadas con mayor susceptibilidad a infecciones fúngicas como la mucormicosis y la aspergilosis, especialmente en pacientes inmunocomprometidos o con COVID-19 (Hong *et al.*, 2025). En este sentido, el hierro intracelular no solo facilita la replicación de los patógenos, sino que también potencia la inducción de ferroptosis, exacerbando la lesión tisular (Hong *et al.*, 2025; Y. Li *et al.*, 2022).

En conjunto, estas evidencias apuntan a la ferroptosis como un eje patológico central en las infecciones respiratorias, contribuyendo tanto a la disfunción epitelial como a la propagación de los patógenos en el tracto respiratorio (Amaral *et al.*, 2019; Dar *et al.*, 2018). En el caso de la EPOC, caracterizada por inflamación crónica y exacerbaciones infecciosas recurrentes, la susceptibilidad a la ferroptosis podría representar un mecanismo clave que conecta la inflamación persistente, la vulnerabilidad epitelial y la progresión de la enfermedad (Matsushita *et al.*, 2015). Esto abre nuevas posibilidades terapéuticas orientadas a modular la vía ferroptótica para proteger la integridad pulmonar y frenar el avance de la enfermedad (Amaral *et al.*, 2019; Dar *et al.*, 2018) (Figura 6).

Figura 6

Doble papel de la ferroptosis en enfermedades pulmonares y cáncer



Nota. La ferroptosis puede ejercer funciones divergentes dependiendo del contexto fisiopatológico. En enfermedades como el cáncer de pulmón y las metástasis, su activación promueve la muerte celular, lo que sugiere un potencial terapéutico. En contraste, en patologías respiratorias como el asma, la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), la tuberculosis o las infecciones pulmonares, la inhibición de la ferroptosis puede resultar protectora, al evitar la pérdida excesiva de células epiteliales o inmunitarias y preservar la función pulmonar. La modulación de esta forma de muerte celular ofrece, por tanto, un enfoque dual en función del tipo de enfermedad.

1.3.5. MOLÉCULAS IMPLICADAS EN LA FERROPTOSIS

En los últimos años se han estudiado múltiples moléculas implicadas en la ferroptosis (MIRFP). En este trabajo se han analizado cuatro de ellas: GPX4, ACSL4, sTfR1 y factor inductor de apoptosis mitocondrial 2 (AIFM2) (Figura 7).

1.3.5.1. Acil-CoA sintetasa de cadena larga tipo 4 (ACSL4)

Uno de los hallazgos clave en la investigación sobre ferroptosis en enfermedades pulmonares crónicas es el papel regulador de la enzima ACSL4. Esta enzima facilita la incorporación de lípidos poliinsaturados en las membranas celulares, donde se vuelven susceptibles a la peroxidación, promoviendo así la inducción de la ferroptosis. La sobreexpresión de ACSL4 aumenta significativamente la sensibilidad celular a esta forma de muerte, mientras que su inhibición genética o farmacológica confiere protección, tanto en modelos celulares como animales (Doll *et al.*, 2017; Yuan *et al.*, 2016).

En el contexto de la EPOC, un estudio reciente ha demostrado que en modelos murinos y celulares expuestos a extracto de humo de cigarrillo se observa una marcada elevación en la expresión de ACSL4 tanto en el tejido pulmonar como en células epiteliales bronquiales pulmonares. Esta elevación venía acompañada de marcadores clásicos de la ferroptosis, como el aumento del MDA, la acumulación de hierro o la disminución del glutatión (Y. Wang & Xia, 2023). Cuando estos cultivos fueron sometidos a la inhibición de ACSL4, se observó una reducción significativa en la ferroptosis, restaurando los niveles de GSH, disminuyendo la peroxidación lipídica y mejorando parámetros funcionales respiratorios como la frecuencia respiratoria en ratones con EPOC (Y. Wang & Xia, 2023).

Además, se ha demostrado que la inflamación producida por el CS puede activar la ferroptosis en células epiteliales alveolares a través de la secreción de leucotrieno B4, un mediador proinflamatorio que estimula la expresión de ACSL4 y promueve la peroxidación lipídica. Este mecanismo contribuye directamente al daño epitelial y al desarrollo de enfisema. Estos hallazgos refuerzan la hipótesis de que existe un eje inflamatorio-oxidativo, mediado por ACSL4, que vincula de forma directa la exposición al humo con la degradación estructural del parénquima pulmonar (Günes-Günsel *et al.*, 2022).

Desde una perspectiva terapéutica, la inhibición farmacológica de ACSL4 también ha mostrado resultados prometedores. En particular, el uso de un inhibidor selectivo de ACSL4 logró prevenir eficazmente la ferroptosis en modelos *in vitro* e *in vivo*. Este tratamiento no solo redujo la oxidación de lípidos, sino que replicó los cambios lipídicos

observados en células deficientes en ACSL4, proporcionando así una posible vía de intervención para enfermedades relacionadas con la ferroptosis, como la EPOC (Doll *et al.*, 2017).

Además, se ha observado que ACSL4 no actúa de manera aislada, sino en coordinación con otras enzimas oxidativas, como las lipoxigenasas, y que su expresión está regulada por mecanismos transcripcionales y postraduccionales, lo que amplía las oportunidades de intervención farmacológica, ya no solo en la EPOC, sino también en otras enfermedades crónicas inflamatorias y degenerativas (Jia *et al.*, 2023).

En conjunto, estos hallazgos posicionan a ACSL4 como un punto clave en la regulación de la ferroptosis inducida por el humo del cigarrillo, implicando su participación directa en el daño epitelial pulmonar característico de la EPOC (Doll *et al.*, 2017; Y. Wang & Xia, 2023). Cabe destacar que, según el *Human Protein Atlas*, ACSL4 es una proteína detectable en sangre, lo que podría facilitar su monitorización como biomarcador en futuros enfoques clínicos. Su modulación, ya sea mediante inhibición genética o farmacológica, representa una estrategia potencial para mitigar el daño pulmonar asociado a esta enfermedad crónica (Günes-Günsel *et al.*, 2022; Jia *et al.*, 2023). Según el *Human Protein Atlas*, esta proteína es detectable en sangre.

1.3.5.2. Receptor soluble de transferrina-1 (sTfR1)

El receptor de transferrina tipo 1 (TfR1) es una glicoproteína transmembrana esencial para la captación de hierro férrico (Fe^{3+}) unido a transferrina, siendo esta la vía principal de entrada de hierro a la mayoría de las células del organismo. Una fracción de este receptor puede liberarse al torrente sanguíneo mediante un proceso enzimático que escinde su porción extracelular; este fragmento circulante se conoce como receptor soluble de transferrina tipo 1 (sTfR1). Así, los niveles plasmáticos de sTfR1 reflejan la demanda celular de hierro, siendo útil como biomarcador diagnóstico en contextos de deficiencia férrica o inflamación crónica (Charlebois & Pantopoulos, 2023).

Más allá de su función clásica en la homeostasis férrica, el TfR1 ha emergido como un regulador funcional clave en la ferroptosis. Durante este proceso, se ha observado que TfR1 se redistribuye hacia la membrana plasmática, lo que incrementa la captación de hierro sin cambios en la expresión génica, sugiriendo un mecanismo de regulación

postraduccional. Los niveles elevados de este receptor en la superficie celular favorece la acumulación de hierro libre intracelular y la progresión de la muerte celular por ferroptosis (Feng *et al.*, 2020).

La función de TfR1, sin embargo, depende del contexto. En modelos de condrocitos o células en crecimiento, su sobreexpresión favorece la diferenciación celular y reduce la susceptibilidad a la ferroptosis. En contraste, su inhibición activa rutas compensatorias de captación de hierro no ligadas a transferrina, lo que incrementa el estrés oxidativo mitocondrial y activa señales asociadas a daño celular y alteraciones en el desarrollo (Wang *et al.*, 2025). Paralelamente, los niveles séricos de sTfR1 aumentan durante etapas de crecimiento rápido, como la adolescencia, y disminuyen en condiciones que afectan la formación del cartílago, lo que se ha vinculado con una mayor susceptibilidad a la ferroptosis. Este efecto puede revertirse parcialmente mediante inhibidores, lo que sugiere un papel protector de sTfR1 a nivel sistémico (Wang *et al.*, 2025).

En condiciones donde la homeostasis del hierro está comprometida, como en situaciones de estrés oxidativo o disfunción mitocondrial, la expresión y actividad de TfR1 parecen desempeñar un papel determinante. La ausencia o inhibición de este receptor puede inducir rutas compensatorias de captación de hierro no ligadas a transferrina, que aumentan el estrés oxidativo y sensibilizan a las células a la ferroptosis. Esto es especialmente relevante en tejidos con alta demanda de hierro, como el cartílago en desarrollo o el epitelio pulmonar, donde alteraciones en la disponibilidad férrica afectan procesos clave como la diferenciación celular o la respuesta inflamatoria (Wang *et al.*, 2025).

En el caso concreto de la EPOC, caracterizada por inflamación crónica y un entorno oxidativo persistente, se ha descrito que la inducción de la autofagia por especies reactivas de oxígeno en el contexto de la ferroptosis promueve la degradación de ferritina (ferritinofagia) y una sobreexpresión de TfR1. De esta forma, se facilita una entrada masiva de hierro al citoplasma, generando un bucle de retroalimentación en el que el daño oxidativo favorece aún más la captación de hierro, intensificando la progresión del proceso ferroptótico en células epiteliales respiratorias (Park & Chung, 2019).

La relevancia clínica de estos hallazgos se refleja en estudios recientes. En una cohorte de pacientes con EPOC, niveles elevados de TfR1 sérico se correlacionaron con peor función pulmonar (DLCO reducida), menor distancia recorrida en la prueba de marcha de 6 minutos, mayor frecuencia de exacerbaciones y puntuaciones más altas de fibrosis en TAC. Además, en modelos animales, la sobreexpresión de TfR1 se asoció con mayor daño pulmonar y fibrosis intersticial, confirmando su papel como biomarcador de progresión hacia la fibrosis (Wu et al., 2025). Paralelamente, en pacientes con EPOC e hipertensión pulmonar, el sTfR1 sérico se asoció de forma independiente con la presión arterial pulmonar media y la resistencia vascular pulmonar, prediciendo peor supervivencia. En particular, la combinación de sTfR1 elevado y hemoglobina baja mejoró la capacidad diagnóstica para identificar hipertensión pulmonar severa, definiendo un fenotipo caracterizado por inflamación sistémica, anemia y deficiencia de hierro con mal pronóstico (Myronenko et al., 2025).

En conjunto, estos hallazgos posicionan al sTfR1 como un nodo clave en la interacción entre el metabolismo del hierro, el estrés oxidativo y la muerte celular por ferroptosis. En el contexto de enfermedades como la EPOC, el análisis de sTfR1 no solo aporta valor diagnóstico (Charlebois & Pantopoulos, 2023; Feng et al., 2020), sino que también abre la posibilidad de desarrollar estrategias terapéuticas dirigidas a modular su expresión o función (Park & Chung, 2019; Wang et al., 2025) para mitigar el daño oxidativo y la progresión de la enfermedad.

1.3.5.3. Glutatión peroxidasa 4 (GPX4)

La enzima GPX4 es una selenoproteína esencial para la defensa antioxidante celular, encargada específicamente de reducir los peróxidos lipídicos a sus formas no tóxicas utilizando glutatión como cofactor, por lo que se considera el principal inhibidor de la ferroptosis (Yang et al., 2014).

Diversos estudios han demostrado que la inactivación de GPX4, ya sea mediante la disminución de GSH o inhibición directa, desencadena una rápida acumulación de peróxidos lipídicos, colapsando la homeostasis redox y promoviendo la muerte celular por ferroptosis (Yang et al., 2014). En este sentido, la función de GPX4 actúa como un verdadero inhibidor frente a la ferroptosis y está regulada por mecanismos

transcripcionales como la vía de NRF2, que desempeña un papel central en la defensa antioxidante celular. De hecho, la activación del eje NRF2 / *SLC7A11* / *GPX4*, donde NRF2 promueve la expresión de *SLC7A11*, gen que codifica la subunidad funcional del sistema Xc⁻ encargado del transporte de cistina para la síntesis de glutatión, y de *GPX4*, gen que codifica la enzima GPX4, que reduce los peróxidos lipídicos, se ha consolidado como un mecanismo esencial para inhibir la ferroptosis en diversos modelos celulares y animales, incluyendo los relacionados con enfermedades pulmonares como la EPOC (Liu *et al.*, 2025; X. Liu *et al.*, 2022).

En el contexto específico de la EPOC, caracterizada por inflamación crónica, desequilibrio oxidativo y remodelado epitelial, la disfunción de GPX4 parece desempeñar un papel crucial en la progresión del daño pulmonar. Se ha observado una marcada disminución de GPX4 en tejido pulmonar de pacientes con EPOC y modelos murinos expuestos a extracto de humo de cigarrillo, tanto a nivel proteico como de actividad funcional, lo que se asocia con un incremento en peróxidos lipídicos, ROS y citoquinas inflamatorias como IL-8 e IL-1 β , lo que agrava el daño epitelial pulmonar (Zhang *et al.*, 2021).

Asimismo, estudios experimentales en otros modelos de lesión pulmonar no relacionados con el humo de cigarrillo han confirmado una reducción significativa de la actividad de GPX4, como en la fibrosis inducida por polímero de guanidina de hexametileno (PHMG) (W. Zhang *et al.*, 2024), la lesión pulmonar aguda por lipopolisacárido (LPS), un componente bacteriano que desencadena una respuesta inflamatoria (X. Yan *et al.*, 2025), y el daño epitelial secundario a ventilación mecánica (Jiang *et al.*, 2023), todos ellos acompañados de aumento del estrés oxidativo y marcadores de ferroptosis.

Intervenciones experimentales con antioxidantes han mostrado efectos protectores al restablecer la actividad de GPX4 y reducir la ferroptosis inducida por humo de cigarrillo, tanto en modelos *in vitro* como en animales. Sin embargo, estos efectos se pierden al bloquear la activación de NRF2, lo que subraya la importancia de este factor de transcripción en la regulación de este sistema antioxidante (X. Liu *et al.*, 2022; Z. Zhao *et al.*, 2023).

Además, estudios recientes en modelos murinos han demostrado que el aumento de *GPX4* en el epitelio pulmonar reduce el daño oxidativo inducido por cigarrillo y preserva la función respiratoria (Liu *et al.*, 2025). En este sentido, la activación del eje *NRF2/SLC7A11/GPX4* no solo representa una diana terapéutica prometedora para contrarrestar la ferroptosis, sino también una vía potencial para frenar el deterioro progresivo en enfermedades respiratorias crónicas como la EPOC (Liu *et al.*, 2025; Z. Zhao *et al.*, 2023).

1.3.5.4. Factor inductor de apoptosis mitocondrial 2 (*AIFM2*)

El factor inductor de apoptosis mitocondrial 2 (*AIFM2*), también conocido como proteína supresora de la ferroptosis 1 (FSP1, por sus siglas en inglés) es una flavoproteína inicialmente descrita como proapoptótica, pero cuya función ha sido redefinida en los últimos años como un potente inhibidor de la ferroptosis. *AIFM2/FSP1* actúa mediante un mecanismo independiente del sistema *GPX4*, donde, utilizando NAD(P)H, reduce coenzima Q10 (CoQ10) a su forma activa, ubiquinol (CoQH₂). Este compuesto actúa como antioxidante lipofílico, atrapando radicales peroxilo lipídicos e interrumpiendo la cascada oxidativa que caracteriza a la ferroptosis. De esta forma, FSP1 representa una vía paralela de defensa antioxidante, especialmente relevante en tejidos con alto contenido lipídico o bajo nivel de *GPX4* (Bersuker *et al.*, 2019; Doll *et al.*, 2019).

La importancia de *AIFM2* en la resistencia a la ferroptosis ha sido especialmente destacada en el contexto del cáncer, donde su sobreexpresión se ha asociado con una mayor resistencia a inhibidores de *GPX4*. En modelos celulares y de xenoinjertos tumorales, la eliminación simultánea de *GPX4* y *AIFM2* resultó en una inhibición significativa del crecimiento tumoral, lo que subraya su papel esencial como defensores contra la ferroptosis (Bersuker *et al.*, 2019).

Además de su relevancia en oncología, se ha propuesto que *AIFM2* podría tener un rol en patologías respiratorias crónicas como la EPOC, donde el estrés oxidativo desempeña un papel central. Estudios en modelos de células epiteliales pulmonares humanas han demostrado que la exposición al humo del cigarrillo induce ferroptosis, asociada con una acumulación de peróxidos lípidicos y perdida estructural del epitelio. En este contexto, la restauración de la expresión de FSP1 atenúa los efectos del humo mediante la

regeneración eficiente de CoQ10, evitando así la acumulación de peróxidos lipídicos (Zhao *et al.*, 2023).

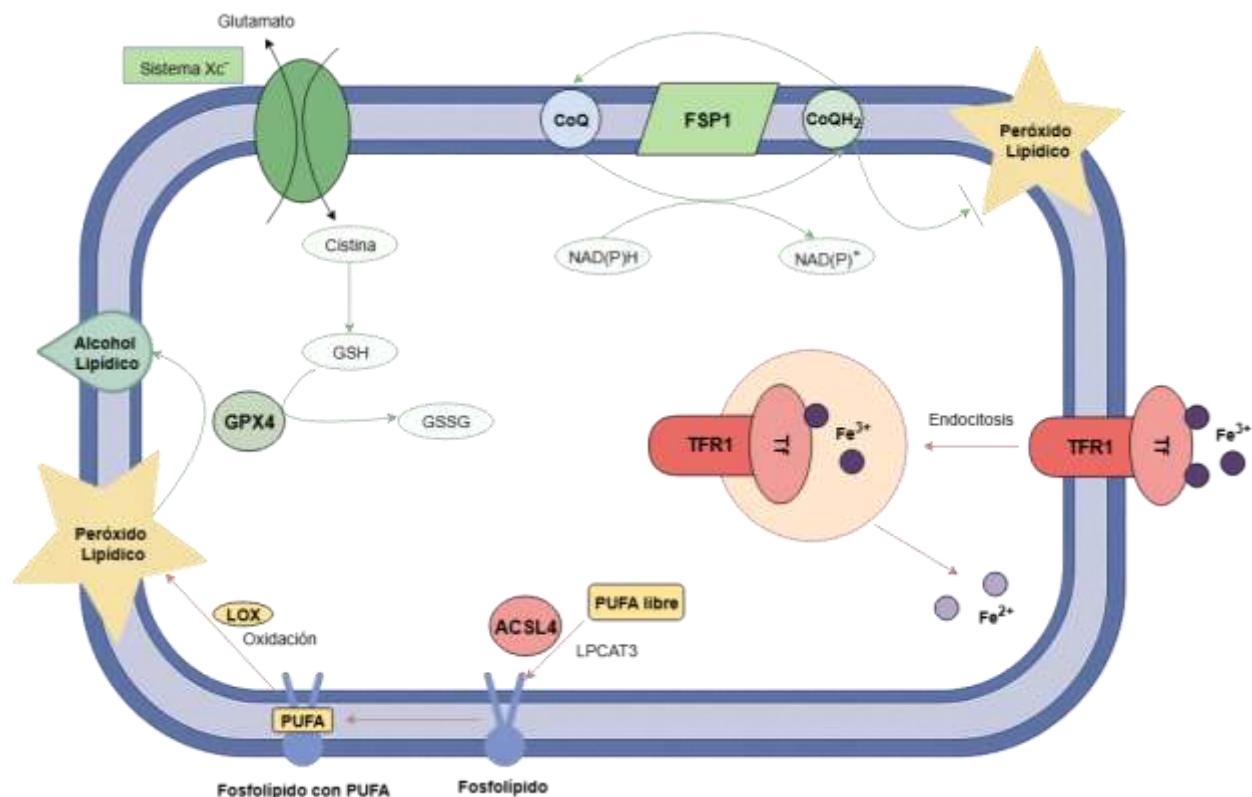
Aunque *AIFM2* actúa de manera independiente del eje Nrf2/*SLC7A11/GPX4*, su interacción con estas vías podría ser sinérgica. En modelos en los que *GPX4* está reducido o inhibido, *AIFM2* compensa parcialmente su función. Un ejemplo de ello es la enfermedad hepática aguda sobre crónica asociada al virus de la hepatitis B, en la que se ha documentado una reducción en la expresión de *GPX4*, que conlleva un incremento del estrés oxidativo y mayor mortalidad, donde se ha propuesto que *AIFM2* podría amortiguar la pérdida de función del eje (Su *et al.*, 2024). Pese a que en el estudio no se evaluó directamente a *FSP1*, esta posibilidad se refuerza por los hallazgos experimentales en otros modelos, donde la sobreexpresión de *FSP1* ha demostrado restaurar la resistencia a ferroptosis incluso en ausencia de *GPX4* (Bersuker *et al.*, 2019; Doll *et al.*, 2019).

En este contexto, se ha propuesto que reforzar las defensas antioxidantes celulares podría ser una estrategia útil para contrarrestar el daño oxidativo en la EPOC. En particular, compuestos naturales como los flavonoides presentes *T. chinense* ejercen efectos protectores al activar NRF2, lo que sugiere una conexión funcional entre defensa antioxidante, regulación epigenética y modulación farmacológica de la ferroptosis. En este sentido, deficiencias en *GPX4*, ya sean funcionales o epigenéticas, combinadas con niveles bajos de *FSP1* podrían agravar el daño pulmonar en pacientes con EPOC expuestos a humo de cigarrillo (X. Liu *et al.*, 2022).

Por tanto, *FSP1* (*AIFM2*) emerge como una diana terapéutica prometedora para prevenir la muerte celular inducida por ferroptosis en la EPOC. Su capacidad de neutralizar radicales lipídicos de forma independiente al sistema glutatiónico lo sitúa como componente esencial de la red antioxidante pulmonar (Doll *et al.*, 2019; Su *et al.*, 2024). La activación de *AIFM2* podría mitigar el daño oxidativo inducido por el CS, restaurando parcialmente la viabilidad epitelial en un entorno pro-ferroptótico, como el observado en modelos de EPOC (X. Liu *et al.*, 2022; Z. Zhao *et al.*, 2023). La activación coordinada de *GPX4*, NRF2 y *FSP1* podría ofrecer una estrategia más robusta para frenar la progresión de la enfermedad, restaurando la resistencia epitelial frente al estrés oxidativo crónico (Bersuker *et al.*, 2019; Liu *et al.*, 2025).

Figura 7

Mecanismo de acción de GPX4, TFR1, FSP1 y ACSL4 en la regulación de la ferroptosis



Nota. Este esquema muestra las principales rutas moleculares implicadas en la regulación de la ferroptosis, centradas en las funciones de la glutatión peroxidasa 4 (GPX4), el factor inductor de apoptosis mitocondrial 2 (AIFM2 o FSP1), el receptor de transferrina tipo 1 (TFR1) y la acil-CoA sintetasa de cadena larga tipo 4 (ACSL4).

En verde se indican las rutas anti-ferroptóticas: GPX4 reduce peróxidos lipídicos a alcoholes lipídicos mediante glutatión reducido (GSH), mientras que FSP1 regenera coenzima Q10 reducida ($CoQH_2$) a partir de su forma oxidada (CoQ), en una vía dependiente de nicotinamida adenina dinucleótido fosfato reducido (NADPH), limitando la propagación de radicales lipídicos. En rojo/rosa las vías pro-ferroptóticas: TFR1 aumenta el hierro intracelular mediante la endocitosis de hierro férrico (Fe^{3+}), liberado como hierro ferroso (Fe^{2+}) en el citoplasma, lo que favorece la generación de radicales. Por otro lado, ACSL4 activa ácidos grasos poliinsaturados (PUFA), que se incorporan a fosfolípidos de membrana por la enzima *lysophosphatidylcholine acyltransferase 3* (LPCAT3) y son posteriormente oxidados por lipoxygenasas (LOX), generando peróxidos lipídicos. En conjunto, estas rutas determinan el equilibrio entre la resistencia y susceptibilidad celular a la ferroptosis, fenómeno de especial relevancia en la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC).

2. HIPÓTESIS

La ferroptosis se encuentra alterada en pacientes con EPOC, principalmente a nivel broncopulmonar, aunque también se han descrito manifestaciones a nivel sistémico. Estas alteraciones varían en función del grado de afectación de la enfermedad y se reflejan en modificaciones en los niveles séricos de ACSL4, sTfR1, AIFM2/FSP1 y GPX4, principales marcadores de las vías metabólicas clave, implicadas en esta forma de muerte celular. Estos cambios se asocian con una disminución de la capacidad de ejercicio y un mayor riesgo de exacerbaciones, lo que sugiere que dichos biomarcadores podrían tener un valor pronóstico en la evolución clínica de la EPOC y abrir nuevas perspectivas terapéuticas.

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO PRINCIPAL

Analizar el papel de cuatro moléculas asociadas a la ferroptosis en pacientes con EPOC en fase estable, evaluando su relación con variables clínicas relevantes y su potencial valor como factores predictivos de exacerbaciones.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Describir y comparar los niveles séricos de las moléculas relacionadas con la ferroptosis (sTfR1, GPX4, ACSL4 y AIFM2) entre pacientes con EPOC en fase estable y un grupo control de fumadores sin EPOC.
2. Evaluar las asociaciones entre los niveles de las moléculas relacionadas con la ferroptosis y parámetros clínicos y antropométricos en el grupo de pacientes con EPOC.
3. Analizar la relación entre los niveles de las moléculas relacionadas con la ferroptosis y la capacidad funcional, evaluada mediante test de marcha de 6 minutos.
4. Explorar el valor pronóstico de las moléculas relacionadas con la ferroptosis como predictores independientes de riesgo de exacerbaciones moderadas y severas (hospitalizaciones) en pacientes con EPOC.
5. Comparar la capacidad predictiva de las moléculas relacionadas con la ferroptosis en relación con alteraciones funcionales y eventos clínicos en pacientes con EPOC estable.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1. DISEÑO DEL ESTUDIO

Se realizó un estudio observacional de cohortes prospectivo en el Hospital Universitario Marqués de Valdecilla, un hospital terciario situado en Cantabria, España. El protocolo del estudio fue registrado en la base de datos de ClinicalTrials.gov (<https://clinicaltrials.gov/study/NCT06102993>) y aprobado por el comité de ética de la institución (número de aprobación: 2023.297).

El reclutamiento de los participantes se llevó a cabo entre octubre de 2018 y septiembre de 2023. Todos ellos fueron previamente informados sobre los objetivos del estudio y, quienes manifestaron su voluntad de participar, firmaron el correspondiente consentimiento informado por escrito.

Las muestras biológicas y los datos clínicos de los participantes fueron conservados por el Biobanco Valdecilla (PT17/0015/0019), dentro de la colección de EPOC, la cual contaba también con la aprobación del comité de ética de la institución hospitalaria (2018.189).

4.2. PARTICIPANTES

Los pacientes con EPOC fueron reclutados durante las visitas rutinarias a la consulta externa especializada en EPOC. A este grupo se le realizó un seguimiento prospectivo de un año.

Los sujetos control, definidos como fumadores sin diagnóstico de EPOC, fueron seleccionados en las consultas especializadas de deshabituación tabáquica. Se incluyeron aquellos que fueron emparejados por edad y sexo con los pacientes del grupo EPOC.

4.2.1. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

Se definieron criterios específicos de inclusión y exclusión con el objetivo de seleccionar una cohorte representativa y homogénea. Estos criterios fueron establecidos para garantizar la validez del análisis y evitar posibles sesgos derivados de la presencia de enfermedades concomitantes que pudieran interferir en los resultados del estudio.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

Grupo EPOC en fase estable:

- Se incluyeron pacientes diagnosticados de EPOC según criterios GOLD, (pacientes con antecedentes de tabaquismo y una espirometría post-broncodilatador con un cociente FEV₁/FVC <0,7) (GOLD, 2024). Todos ellos seguidos en la consulta externa monográfica de EPOC del Hospital Universitario Marqués de Valdecilla.
- Edad mayor de 40 años.
- En fase estable (sin estar agudizados durante al menos las 8 semanas previas a ser incluidos en el estudio).

Grupo control:

- Voluntarios fumadores activos o exfumadores sin EPOC u otra patología respiratoria, emparejados por edad, y sexo con los pacientes del grupo EPOC, y sin patología respiratoria (descartada por espirometría).

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

Se excluyeron aquellos participantes que cumplían alguno de los siguientes criterios:

- Haber presentado una exacerbación de EPOC en las 8 semanas previas a la inclusión.
- Estar recibiendo tratamiento de rehabilitación pulmonar o haberlo recibido en los 6 meses anteriores.
- Antecedentes personales de cardiopatía isquémica o cáncer.
- Presencia de policitemia (hemoglobina > 18mg/dL), anemia (hemoglobina < 12mg/dL) o trastornos genéticos que afecten al metabolismo del hierro (por ejemplo, hemocromatosis).
- Tasa de filtrado glomerular (TFG) < 50mL/min/1.73m³.

4.3. VARIABLES RECOGIDAS

Tras la firma del consentimiento informado, se extrajo una muestra de sangre a primera hora de la mañana a todos los participantes. Todas las muestras y los datos asociados fueron almacenados por el Biobanco Valdecilla (PT17/0015/0019), perteneciente a la Red Nacional de Biobancos. Las muestras se procesaron siguiendo los procedimientos operativos estandarizados.

Además, se recogieron las siguientes variables clínicas:

- Edad y sexo
- Hábito tabáquico: fumador o exfumador, e índice de paquetes/año (IPA)
- Índice de Charlson (*Charlson et al., 1987*) mediante revisión de historia clínica y entrevista con el participante

También se evaluaron las siguientes variables antropométricas:

- Talla (cm) y peso (kg).
- Índice de masa corporal (kg/m²), calculado mediante un dispositivo de bioimpedancia eléctrica (OMRON BF511, Omrón, Japón).
- La fuerza máxima de presión manual medida mediante un dinamómetro de mano GRIP-A (Takei, Niigata, Japón). Se indicó a los participantes que ejercieran la máxima fuerza posible durante la prueba.
- Espirometría: se registraron los valores de FEV₁, FVC y el cociente FEV₁/FVC post-broncodilatador, tanto en valores absolutos como en porcentaje respecto al valor teórico. Las pruebas se realizaron conforme a las recomendaciones de la Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica (*Barreiro et al., 2015; García-Río et al., 2013*).
- Test de marcha de seis minutos: se midió la distancia recorrida (en metros) y se registró la saturación de oxígeno (SpO₂) inicial y final.

En el grupo de pacientes con EPOC, se recopilaron además las siguientes variables relacionadas con el control de la enfermedad:

- Cuestionario CAT, para valorar la carga de los síntomas, y evaluación del grado de disnea mediante la escala mMRC.

- Desaturación de oxígeno, definida como una disminución en la de SpO₂ ≥4% o un nivel de SpO₂ <90% (Casanova *et al.*, 2008).
- Número de agudizaciones en el año previo, tanto moderadas como graves, clasificadas por las guías GOLD (GOLD, 2024).
- Tratamiento farmacológico actual de la EPOC, incluyendo el uso de inhaladores (con o sin corticosteroides inhalados), mucolíticos, macrólidos, entre otros.

Finalmente, los pacientes con EPOC fueron clasificados según los estadios GOLD (1–4) y los grupos GOLD (A, B, E), en función de las variables recogidas.

Con el fin de facilitar los análisis comparativos entre subgrupos, los participantes fueron también subdivididos en distintas categorías clínicas a partir de variables dicotómicas:

- Riesgo elevado de exacerbación: se consideró como tal a todo paciente que hubiera presentado dos o más exacerbaciones en el año previo, o al menos una hospitalización por EPOC, según los criterios de la guía GOLD 2024 (GOLD, 2024).
- Capacidad funcional (TM6M): se empleó un punto de corte de 350 metros, en base al índice BODE (Celli *et al.*, 2004).
- Composición corporal: los pacientes fueron clasificados como normonutridos, con obesidad o con desnutrición relacionada con la enfermedad. Esta última se diagnosticó conforme al consenso de la ESPEN: IMC <18,5 kg/m² o entre 18,5–22 kg/m² en combinación con un índice de masa libre de grasa bajo (<17 kg/m² en hombres y <15 kg/m² en mujeres)(Cederholm *et al.*, 2015).
- Índice de comorbilidad de Charlson: se definió baja comorbilidad para puntuaciones ≤2, y alta comorbilidad para puntuaciones >2 (Charlson *et al.*, 1987).
- Hábito tabáquico: se clasificó como fumadores a aquellos que fumaban en el momento del estudio o que habían dejado de fumar hacía menos de 6 meses, y como exfumadores a quienes habían cesado el hábito tabáquico hacía más de 6 meses.

Los participantes del grupo EPOC fueron seguidos durante 12 meses en las consultas externas de neumología con el objetivo de registrar las exacerbaciones moderadas y las

hospitalizaciones que pudieran haber presentado. Este seguimiento se realizó tanto en visitas presenciales, según práctica clínica habitual, como a través de la revisión de historias clínicas del hospital y de los registros de atención primaria de la comunidad autónoma de Cantabria.

Durante todo el periodo de seguimiento, los investigadores implicados en el estudio desconocían los resultados de las muestras de sangre, lo que garantizó la objetividad en la valoración clínica. Los pacientes que acudieron a urgencias con diagnóstico de agudización respiratoria lo hicieron de forma libre y la decisión de hospitalización fue tomada en cada caso por el personal médico responsable, en función de su juicio clínico.

4.4. DETERMINACIONES ANALÍTICAS

Las muestras sanguíneas fueron extraídas a primera hora de la mañana (habitualmente entre las 08:00 y las 10:00 horas) a todos los participantes del estudio. Inmediatamente tras la obtención, las fracciones de suero y plasma fueron enviadas al Biobanco de Muestras y Tejidos de Cantabria, donde se procedió a su identificación, alicuotado y almacenamiento a una temperatura de -80 °C, siguiendo protocolos estandarizados de calidad y trazabilidad.

Posteriormente, se realizó la determinación bioquímica de los siguientes parámetros: creatinina, albúmina, ácido úrico y creatina quinasa. Todas las mediciones se llevaron a cabo mediante métodos enzimáticos trazables en el analizado automático Atellica Solution (Siemens, Alemania).

Estos análisis se llevaron a cabo en el laboratorio del servicio de Análisis Clínicos y Bioquímica Clínica del hospital.

4.4.1. DETERMINACIONES BÁSICAS

Los parámetros séricos habitualmente utilizados en el seguimiento clínico de estos pacientes, incluyendo albúmina, creatinina, ácido úrico, creatincinasa (CK) y hemoglobina, fueron cuantificados mediante análisis automatizado estandarizado, en un equipo Atellica CH Solution (Siemens® Healthineers, Tarrytown, NY, USA). Además, también se cuantificaron los niveles séricos de hierro, ferritina, transferrina e índice de saturación de transferrina con el mismo equipo. Las determinaciones se realizaron

empleando los reactivos suministrados por el fabricante y siguiendo estrictamente los procedimientos descritos en la ficha técnica correspondiente.

El laboratorio del Servicio de Análisis Clínicos y Bioquímica Clínica del Hospital Universitario Marqués de Valdecilla, encargado del análisis de estos analitos, está adherido a programas de Control de Calidad externo y cumple con los criterios de calidad establecidos.

4.4.1.1. Albúmina

La cuantificación de albúmina sérica (g/dL) se llevó a cabo mediante el método colorimétrico descrito por Doumas, Watson y Biggs, que emplea verde de bromocresol (BCG) como reactivo cromogénico (Doumas et al., 1972). Este colorante forma un complejo albúmina-BCG cuya intensidad de absorbancia es proporcional a la concentración de albúmina en la muestra. La lectura se realizó como una reacción de punto final a una longitud de onda de 596/694 nm.

4.4.1.2. Creatinina

La concentración de creatinina sérica (mg/dL) se determinó mediante un método enzimático basado en la técnica descrita por Fossati, Prencipe y Berti (Fossati et al., 1983). Este procedimiento se fundamenta en la formación de un complejo cromógeno de color azul, cuya absorbancia es directamente proporcional a la concentración de creatinina presente en la muestra. La lectura espectrofotométrica se efectuó a una longitud de onda de 596/694 nm.

4.4.1.3. Ácido úrico

La cuantificación de ácido úrico (mg/dL) se realizó mediante una reacción enzimática basada en el método descrito por Fossati, utilizando uratoxidasa y un sistema de punto final tipo Trinder (Fossati et al., 1980; Trinder, 1969). La formación del complejo coloreado resultante es directamente proporcional a la concentración de ácido úrico en la muestra. La absorbancia se midió como una reacción de punto final a una longitud de onda de 545/694 nm.

4.4.1.4. CK

La determinación de CK (U/L) se realizó mediante una adaptación del método de referencia propuesto por la *International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. La reacción enzimática se basa en el procedimiento modificado descrito por Szasz (Szasz et al., 1976). La actividad de CK se cuantifica a partir de la formación de NADPH (nicotinamida adenina dinucleótido fosfato reducida), cuya concentración creciente se monitoriza por espectrofotometría, midiendo la absorbancia a 340/596 nm.

4.4.1.5. Hemoglobina

La determinación de hemoglobina (g/dL) se llevó a cabo mediante un método colorimétrico basado en la conversión de la hemoglobina a cianometahemoglobina (Drabkin, 1946). En presencia del reactivo de Drabkin, que contiene ferrocianuro potásico y cianuro potásico, la hemoglobina se oxida y posteriormente forma un complejo estable de color marrón-rojizo. La intensidad de color desarrollada es proporcional a la concentración de hemoglobina y se mide por espectrofotometría a una longitud de onda de 540 nm.

4.4.1.6. Hierro

La determinación de hierro sérico ($\mu\text{g/dL}$) se realizó mediante un método colorimétrico basado en la reacción del hierro liberado con ferrozina, formando un complejo coloreado púrpura cuya intensidad es directamente proporcional a la concentración de hierro en la muestra (Fish, 1988). Previamente, el hierro ligado a la transferrina se libera en medio ácido y se reduce a su forma ferrosa (Fe^{2+}). La absorbancia del complejo hierro-ferrozina se midió a una longitud de onda de 560 nm.

4.4.1.7. Ferritina

La cuantificación de ferritina sérica (ng/mL) se realizó mediante un ensayo inmunoquímico basado en el principio de inmunoanálisis por quimioluminiscencia, utilizando anticuerpos específicos frente a la ferritina humana (Cook et al., 1974). El complejo antígeno-anticuerpo formado genera una señal luminosa cuya intensidad es

directamente proporcional a la concentración de ferritina en la muestra. La detección se llevó a cabo mediante un sistema automatizado de lectura por luminometría.

4.4.1.8. Transferrina

La determinación de transferrina sérica (mg/dL) se realizó mediante un método inmunoturbidimétrico, basado en la formación de complejos inmunes entre la transferrina presente en la muestra y anticuerpos específicos anti-transferrina (Kreutzer, 1976). Estos complejos provocan un aumento en la turbidez de la solución, cuya intensidad es directamente proporcional a la concentración de transferrina. La absorbancia se midió fotométricamente a una longitud de onda de 340 nm.

4.4.1.9. Índice de saturación de transferrina

El índice de saturación de transferrina (IST) se calculó a partir de los valores obtenidos de hierro sérico y transferrina, según la fórmula (Finch & Huebers, 1982):

$$IST(\%) = \frac{Hierro\ sérico(\mu g/dL)}{Transferrina(mg/dL) \times 1.25} \times 100$$

Este índice refleja el porcentaje de sitios de unión al hierro ocupados en la transferrina circulante y constituye un marcador indirecto del estado funcional del hierro. Un valor disminuido puede indicar ferropenia, mientras que valores elevados pueden observarse en situaciones de sobrecarga férrica.

4.4.2. DETERMINACIONES DE LAS MOLÉCULAS DE ESTUDIO

Las moléculas relacionadas con la ferroptosis fueron analizadas mediante ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA, por sus siglas en inglés). Esta técnica inmunoenzimática es ampliamente utilizada para la detección y cuantificación de biomoléculas, como anticuerpos, antígenos, proteínas u otras sustancias presentes en fluidos biológicos. Su fundamento se basa en la unión específica entre un anticuerpo y su antígeno, con la adición de una enzima acoplada que, al reaccionar con un sustrato cromogénico, produce una señal detectable, habitualmente un cambio de color. Esta señal suele cuantificarse mediante espectrofotometría, lo que permite obtener medidas precisas de la concentración del analito (Hayrapetyan *et al.*, 2023).

En cada tanda de análisis se incluyeron pacientes con EPOC en fase estable y controles, y se repitieron aleatoriamente algunas muestras previamente procesadas, con el fin de controlar la variabilidad intraensayo e interensayo y garantizar la reproducibilidad de los resultados. Estas prácticas siguen las recomendaciones metodológicas propuestas por Serban *et al.* quienes además destacan la importancia del control preanalítico (incluyendo el tiempo de procesamiento, la temperatura, el estado de ayuno y la presencia de hemólisis) como factores determinantes en la calidad final de los datos proteómicos (Serban *et al.*, 2021).

4.4.2.1. Determinaciones de ACSL4, sTfR1 y GPX4

Las concentraciones de ACSL4, sTfR1 y GPX4 se determinaron mediante ensayos tipo sándwich, utilizando kits comerciales de FineTest (Wuhan, China) específicos para cada analito (EH6088-96T para ACSL4, EH0386-96T para sTfR1 y EH8916-96T para GPX4). En estos ensayos, las placas de 96 pocillos se encontraban recubiertas con anticuerpos específicos frente a la molécula diana. Las muestras se prediluyeron previamente con el tampón diluyente suministrado por el fabricante, de acuerdo con el protocolo de cada kit. En nuestro caso, las diluciones realizadas fueron de 1:70 para GPX4, 1:2 para ACSL4 y 1:10 000 para sTfR1.

Los estándares se prepararon mediante diluciones seriadas a partir de soluciones estándar reconstituidas de 2000 a 31,25 pg/ml para ACSL4 y sTfR1 y de 5000 a 78,125 pg/ml para GPX4.

Se añadieron 100 µL de muestra o estándar a cada pocillo, seguidos de un anticuerpo de detección biotinilado y, posteriormente, estreptavidina conjugada a peroxidasa (HRP). Tras las incubaciones y lavados pertinentes, se añadió el sustrato cromogénico tetrametilbenzidina (TMB) y se permitió el desarrollo de la reacción enzimática durante 10–20 minutos a 37 °C, en oscuridad. La reacción se detuvo mediante la adición de solución ácida y la absorbancia se midió a 450 nm. Las concentraciones se calcularon mediante una curva estándar ajustada por el modelo de cuatro parámetros logísticos (4PL).

Cada uno de los kits presentó las siguientes características, según los datos proporcionados por el fabricante:

ACSL4: sensibilidad de 18,75 pg/mL, sin reactividad cruzada significativa. Precisión intraensayo <6 % e interensayo <6,5 %. Recuperación en suero del 88–101 %, con linealidad confirmada en diluciones 1:2, 1:4 y 1:8 entre el 80–105 %.

sTfR1: sensibilidad de 18,75 pg/mL, sin interferencias relevantes. Precisión intraensayo de 4,74–5,75 % e interensayo de 5,78–6,07 %. Recuperación del 94 % en suero y entre 90–100 % en plasma. Linealidad entre 89–103 %.

GPX4: sensibilidad de 46,875 pg/mL. Precisión intraensayo de 5,1–5,3 % e interensayo de 5,3–5,4 %. Recuperación en suero del 96 % (rango 84–99 %) y del 91 % en plasma. Linealidad entre 81–105 %.

Todas estas condiciones y parámetros analíticos fueron establecidos por FineTest durante la validación interna de los respectivos kits y se utilizaron como referencia para la interpretación y aceptación de los resultados obtenidos en el presente estudio.

4.4.2.2. Determinación de AIFM2/FSP1

La determinación de AIFM2 se realizó mediante un ensayo ELISA competitivo en fase sólida, utilizando el kit comercial MBS7246204 (MyBioSource, California, Estados Unidos), diseñado específicamente para la detección cuantitativa de esta proteína en suero, plasma, sobrenadantes de cultivo celular, fluidos corporales y homogeneizados tisulares, según lo indicado por el fabricante.

A diferencia del formato sándwich, este tipo de ensayo se basa en la competencia entre el AIFM2 endógeno presente en la muestra y un conjugado enzimático marcado con HRP por los sitios de unión del anticuerpo. En este contexto, la intensidad de la señal es inversamente proporcional a la concentración de AIFM2 en la muestra.

Las muestras se prediluyeron 1:2 con el tampón diluyente suministrado en el kit, de acuerdo con el protocolo establecido por el fabricante. Se añadieron 100 µL de muestra o estándar a cada pocillo, junto con 10 µL de conjugado enzimático AIFM2-HRP. Tras una incubación de una hora a 37 °C, se realizaron cinco lavados sucesivos para eliminar el exceso de reactivos no unidos. A continuación, se añadieron los sustratos cromogénicos TMB (A y B) y se incubó la mezcla durante 15–20 minutos en oscuridad a 37 °C. La reacción enzimática se detuvo mediante la adición de una solución ácida, lo que provocó

un cambio de color proporcional a la cantidad de conjugado unido, e inversamente proporcional a la cantidad de AIFM2 unido. La absorbancia se midió inmediatamente a 450 nm.

La concentración de AIFM2 se calculó a partir de una curva estándar 4PL. Según el fabricante, el kit presenta una sensibilidad de 0,1 ng/mL. La precisión intraensayo fue <10 % y la interensayo <12 %. La recuperación media fue del 94–103 % y la linealidad se confirmó en diluciones 1:2, 1:4 y 1:8, con tasas de recuperación entre el 92 % y el 103 %. El ensayo no mostró reactividad cruzada significativa con otras proteínas.

Todos estos parámetros fueron proporcionados por MyBioSource durante la validación interna del kit y se utilizaron como referencia en el presente estudio para la interpretación de los datos obtenidos.

4.5. PROCESAMIENTO DE DATOS Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El cálculo del tamaño muestral se realizó utilizando el software Stata Statistical Software: Release 15 (StataCorp LLC, College Station, TX), asumiendo un riesgo α del 5 % y un riesgo β del 20 %.

Los datos de todos los participantes fueron introducidos en una base de datos elaborada con Microsoft Excel 2019 (versión 17.0) y posteriormente exportados al programa IBM SPSS Statistics versión 25.0 (IBM Corp., Armonk, NY) para su análisis estadístico.

La distribución de las variables se evaluó mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Las variables con distribución normal se expresaron como media \pm desviación estándar, mientras que aquellas con distribución no normal se presentaron como mediana (rango intercuartílico). Para la comparación entre grupos, se utilizaron pruebas t de Student no apareadas en el caso de datos paramétricos y pruebas de Mann-Whitney U para los no paramétricos. Las comparaciones entre variables cualitativas se realizaron mediante la prueba de chi-cuadrado (χ^2).

Los biomarcadores ACSL4, sTfR1, AIFM2 y GPX4 fueron dicotomizados tomando como punto de corte su valor mediano, ya que esta estrategia ofreció el mejor poder discriminativo respecto a los desenlaces clínicos, según el menor valor del criterio de

información de Akaike (AIC), en consonancia con estudios previos similares (Amado *et al.*, 2022; Amado, Martín-Audera, Agüero, Lavín, *et al.*, 2023).

Las asociaciones transversales entre los niveles séricos de dichos biomarcadores y las características clínicas de los pacientes con EPOC se analizaron mediante regresión logística univariante y multivariante, considerando como variable dependiente la categoría alto vs. bajo de cada biomarcador.

Para evaluar la incidencia de exacerbaciones a lo largo del seguimiento, se aplicaron curvas de supervivencia de Kaplan-Meier, y la comparación entre grupos se realizó mediante el test de log-rank. Asimismo, se emplearon modelos de regresión de Cox con riesgos proporcionales (análisis univariante y multivariante) para identificar factores asociados a un mayor riesgo de presentar exacerbaciones moderadas o graves, incluyendo la hospitalización.

Se consideraron estadísticamente significativas todas aquellas diferencias con un valor de $p < 0,05$, y todos los valores de p reportados fueron bilaterales.

5. RESULTADOS

5.1. CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES Y CONTROLES

Las características demográficas, clínicas y funcionales de los 236 participantes del estudio se presentan en la Tabla 4.

En el estudio se incluyeron 179 pacientes con EPOC y 57 controles sanos emparejados por edad y sexo (Tabla 4). La mediana de edad del grupo de pacientes fue de 67 (61-72) años, y el 67,6% (n=121) eran hombres. Por su parte, el grupo control presentó una mediana de 65 años (62-69) ($p=0.232$) y una proporción similar de varones 63.2% (n=36, $p = 0.536$). La distribución del hábito tabáquico fue similar en ambos grupos (34,6% de fumadores activos en el grupo EPOC vs. 45.6% de fumadores activos en el grupo control, $p=0.138$) siendo el resto de pacientes ex-fumadores.

En cuanto a la función pulmonar, los pacientes con EPOC presentaron significativamente menor FVC (2988 ± 861 mL vs. 3447 ± 855 mL; $p < 0,001$), FVC% (89% vs. 107%; $p < 0,001$), FEV₁ (1477 ± 814 mL vs. 2673 ± 676 mL; $p < 0,001$), FEV₁% (56,5% vs. 101%; $p < 0,001$) y FEV₁/FVC (48% vs. 75%; $p < 0,001$). La distancia recorrida en el test de 6 minutos fue significativamente menor en el grupo EPOC (413 ± 114 m frente a 509 ± 106 m; $p < 0,001$), al igual que el índice de masa libre de grasa ($18,7 \pm 2,9$ vs. $19,7 \pm 2,5$ kg/m²; $p = 0,008$). La puntuación CAT fue mayor en los pacientes con EPOC (9 [4–16] frente a 3 [1–5]; $p < 0,001$) y el índice de comorbilidades de Charlson también fue superior (1 [1–2] vs. 1 [0–2]; $p = 0,036$). Todos estos resultados son coherentes con la clínica de la enfermedad.

En relación con la disnea, la escala mMRC fue significativamente más alta en el grupo EPOC (63 pacientes con grado 1 o superior, $p < 0,001$). La clasificación GOLD mostró que el 80,1% de los pacientes se encontraban en los estadios 2, 3 o 4, y el 45,8% pertenecía a los grupos GOLD C y D. Además, el 31,3% presentó al menos una hospitalización en el año previo y el 47,4% recibía tratamiento con corticoides inhalados.

Tabla 4

Características demográficas, clínicas y funcionales de los pacientes EPOC y el grupo control

Variable	Grupo EPOC n=179	Grupo Control n=57	P
Edad (años)	67 (61-72)	65 (62-69)	0.232
Sexo hombre n (%)	121 (67.6)	36 (63.2)	0.536
Fumador activo n (%)	62 (34.6)	26 (45.6)	0.136
FVC (mL)	2968+/-861	3447+/-895	<0.001
FVC (%)	89 (74-102)	101 (89-116)	<0.001
FEV₁ (mL)	1471+/-614	2673+/-676	<0.001
FEV₁ (%)	56.5+/-20.9	101.0+/-16.7	<0.001
FEV₁/FVC	48 (38-60)	75 (72-79)	<0.001
Peso (kg)	77.4+/-43.4	76.4+/-16.7	0.867
IMC (Kg/m ²)	27.4+/-4.8	27.8+/-5.1	0.668
TM6M (m)	413+/-114	509+/-106	<0.001
Dinamómetro de presión de mano (kg)	30.1+/-7.9	31.9+/-10.1	0.345
FFMI (Kg/m ²)	18.7+/-2.9	19.2+/-2.6	0.465
Puntuación CAT	9 (4-16)	3 (1-5)	<0.001
Índice Charlson	1 (1-2)	1(0-2)	0.036
Puntuación mMRC	63	45 (78)/8 (14)/4 (7)/0 (0)	<0.001
0/I/II/III/IV n (%)	(35)/52(29)/46(25)/18(10)		
GOLD 1/2/3/4 n (%)	23(13.4)/84(46.9)/53(29.6)/ 18(10.1)	-	-
GOLD A/B/E n (%)	42 (23.5)/55(30.7)/82(45.8)	-	-
1 ingreso o más en el año previo n (%)	56 (31.3)	-	-
Tratamiento con ICS n (%)	67 (37.4)	-	
Diabetes Mellitus n (%)	21 (11.7)	6 (10.5)	0.803

Enfermedad	22 (12.3)	2 (3.5)	0.056
Cardiovascular n (%)			

Nota. FVC= capacidad vital forzada, FEV₁= volumen espiratorio forzado en el primer segundo, mMRC= escala modificada del *Medical Research Council*, CAT= *COPD assessment test*, ICS= corticosteroides inhalados, GOLD= *Global initiative for Chronic Obstructive Lung Disease*, IMC= índice de masa corporal, FFMI= índice de masa libre de grasa, TM6M= test de marcha de 6 minutos. Las variables resaltadas en negrita mostraron significación estadística.

5.2. COMPARACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES SÉRICAS DE LAS MIRFP ENTRE GRUPOS

Los niveles séricos de las moléculas relacionadas con la ferroptosis en pacientes con EPOC y controles sanos, así como los principales parámetros bioquímicos convencionales, se detallan en la Tabla 5. No se encontraron diferencias significativas en los niveles de ACSL4 ($p = 0,553$) ni de AIFM2 ($p = 0,725$) entre pacientes y controles.

No obstante, los niveles de sTfR1 sí fueron significativamente más altos en el grupo EPOC: 2231 (1395-3455) ng/mL frente a 1813 (933-2796) ng/mL en los controles ($p = 0,004$). Por el contrario, los niveles de GPX4 fueron significativamente más bajos en pacientes con EPOC: 78,1 (78,1-213,8) pg/mL frente a 12307,4 (231,8-23725,99) pg/mL en controles ($p = 0,002$). La razón sTfR1/GPX4 también fue mayor en el grupo EPOC: 19,82 (9,91-38,52) frente a 12,31 (0,23-23,73) ($p = 0,001$).

Se encontró una correlación positiva entre ACSL4 y GPX4 ($p < 0,001$; $r = 0,330$) y una correlación negativa entre ACSL4 y AIFM2 ($p < 0,001$; $r = -0,320$). Asimismo, se observó una correlación negativa entre sTfR1 y GPX4 en el grupo EPOC ($p < 0,001$; $r = -0,264$). No se hallaron otras correlaciones significativas entre las moléculas estudiadas.

Tabla 5

Resultados bioquímicos y niveles séricos de las moléculas relacionadas con la ferroptosis

Variable	Grupo EPOC n=179	Grupo Control n=57	P
Albumina (g/dL)	4.84+/-3.2	4.71+/-0.25	0.764
Creatinina (mg/dL)	0.81+/-0.22	0.82+/-0.18	0.674
Ácido úrico (mg/dL)	5.7 (4.5-6.7)	5.2 (4.8-6.3)	0.494
CK (UI/L)	83 (56-127)	72 (48-115)	0.141
Hemoglobina (g/dL)	14.6+/-1.2	14.7+/-2.1	0.637
Hierro (μ g/dL)	95 (75-119)	94 (79-114)	0.910
Ferritina (ng/mL)	86 (40-183)	95.8 (39.4-198.4)	0.631
Transferrina (mg/dL)	251 (226-274)	242 (221-272)	0.229
Índice de saturación de transferrina (%)	26.4 (20.7-34.4)	26.9 (22.6-33.9)	0.508
ACSL4 (pg/mL)	99.6 (32.35-305.7)	92.8 (48.2-391.3)	0.553
sTfR1 (mg/L)	2.231 (1.395-3.455)	1.813 (0.933-2.796)	0.004
AIFM2 (ng/mL)	7 (5.6-9)	7.4 (5.4-9.2)	0.725
GPX4 (pg/mL)	78.1 (78.1-213.8)	12307.4 (231.8- 23725.99)	0.002
sTfR1/GPX4	19.82 (9.91-38.52)	12.31 (0.23-23.73)	0.001

Nota. ACSL4= acyl-CoA synthetase long-chain family member 4, sTfR1= receptor soluble de transferrina-1, AIFM2= factor induktor de apoptosis mitocondrial 2, GPX4= glutatióñ peroxidasa 4, sTfR1/GPX4 = ratio (sTRF1 X 10³)/GPX4. Las variables resaltadas en negrita mostraron significación estadística.

5.3. ASOCIACIÓN ENTRE LAS MIRFP Y LAS CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE LA EPOC

La Tabla 7 presenta las asociaciones entre los niveles basales de moléculas relacionadas con la ferroptosis y las características clínicas de los pacientes con EPOC. El análisis univariado (Modelo A) indicó que niveles elevados de ACSL4 se asociaron con el sexo femenino (OR 1,581; IC95% 1,040–3,773; p = 0,038). Asimismo, niveles elevados de AIFM2 se asociaron con mayor puntuación en la escala mMRC (OR 1,607; IC95% 1,083–2,362; p = 0,019) y menor FVC (%). Por otra parte, niveles elevados de GPX4 se asociaron positivamente con el índice FFMI (OR 1,143; IC95% 1,004–1,301; p = 0,043) y negativamente con el número de exacerbaciones previas. Finalmente, el cociente sTfR1/GPX4 se asoció de forma positiva con el número de exacerbaciones previas (OR 2,531; IC95% 1,239–5,154; p = 0,011) y negativamente con la distancia recorrida en el TM6M (OR 0,996; IC95% 0,993–1,000; p = 0,039) y con el FFMI (OR 0,820; IC95% 0,717–0,938; p = 0,004).

En el análisis multivariado (Modelo B), los niveles elevados de AIFM2 se asociaron de forma independiente con la disnea medida por la escala mMRC (OR 1,607; IC95% 1,083–2,362; p = 0,019), los niveles altos de GPX4 con el FFMI (OR 1,143; IC95% 1,004–1,301; p = 0,043), y la razón sTfR1/GPX4 con exacerbaciones previas (OR 2,531; IC95% 1,239–5,154; p = 0,011), con menor FFMI (OR 0,820; IC95% 0,717–0,938; p = 0,004) y menor TM6M (OR 0,996; IC95% 0,993–1,000; p = 0,039). Sin embargo, sTfR1 por sí solo no se asoció con ninguna característica clínica.

Además, se evaluaron las correlaciones entre los diferentes factores asociados a la ferroptosis en pacientes con EPOC. Se identificó una correlación positiva entre los niveles séricos de ACSL4 y GPX4 ($p<0,001$; $r=0,330$), y una correlación negativa entre ACSL4 y AIFM2 ($p<0,001$; $r=-0,320$). También se observó una correlación negativa entre los niveles de sTfR1 y GPX4 ($p<0,001$; $r=-0,264$). No se identificaron otras correlaciones significativas entre los factores analizados.

Tal como era esperable, se hallaron correlaciones significativas, aunque de baja magnitud, entre los niveles séricos de sTfR1 y parámetros relacionados con el metabolismo del hierro (Tabla 6): transferrina ($p=0,019$; $r=0,176$), hierro ($p=0,006$; $r=-$

0,204), ferritina ($p=0,023$; $r=-0,171$) y saturación de transferrina ($p=0,001$; $r=-0,240$). No se encontró correlación significativa entre sTfR1 y hemoglobina ($p=0,691$; $r=0,029$). Asimismo, los niveles de GPX4 no se correlacionaron con los parámetros de metabolismo del hierro. Por último, ninguna de las moléculas relacionadas con ferroptosis se asoció con el hábito tabáquico.

Tabla 6

Asociaciones entre las variables del metabolismo del hierro y el receptor soluble de la transferrina (sTfR1)

	Variable metabolismo hierro	Coeficiente de correlación de Pearson (r)	<i>p value</i>
sTfR1	Transferrina	0.176	0.019
sTfR1	Hierro	-0.204	0.006
sTfR1	Ferritina	-0.171	0.023
sTfR1	Saturación de transferrina	-0.24	0.001
sTfR1	Hemoglobina	0.029	0.691

Tabla 7

Asociaciones sin ajustar y ajustadas entre las características de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) y niveles elevados de moléculas relacionadas con la ferroptosis (\geq mediana), mediante regresión logística univariante y multivariante. **Modelo A:** regresión logística univariante

Variable		ACSL4		sTfR1		AIFM2		GPX4		sTfR1/GPX4	
		OR (95% CI)	p	OR (95% CI)	p	OR (95% CI)	p	OR (95% CI)	p	OR (95% CI)	p
Edad (años)		1.011 (0.974- 1.049)	0.573	1.014 (0.976- 1.053)	0.466	0.990 (0.953- 1.028)	0.590	1.019 (0.980- 1.060)	0.336	1.013 (0.976- 1.052)	0.499
Sexo											
	Hombre	1		1		1		1		1	
	Mujer	1.981 (1.040- 3.773)	0.038	1.089 (0.582- 2.038)	0.789	0.588 (0.312- 1.108)	0.588	1.119 (0.585- 2.140)	0.734	1.042 (0.555- 1.957)	0.897
Fumador											
	Exfumador	1		1		1		1		1	
	Activo	0.904 (0.484- 1.686)	0.750	0.891 (0.481- 1.649)	0.712	1.085 (0.586- 2.009)	0.795	1.311 (0.689- 2.493)	0.409	0.964 (0.518- 1.793)	0.909

Exacerbación											
	0-1	1		1		1		1		1	
	>1	1.207 (0.661- 2.203)	0.540	0.646 (0.354- 1.177)	0.153	1.028 (0.566- 1.866)	0.928	0.506 (0.268 – 0.956)	0.036	2.695 (1.437 – 5.050)	0.002
Puntuación mMRC		1.119 (0.834- 1.502)	0.454	1.185 (0.882- 1.591)	0.260	1.460 (1.078- 1.977)	0.014	1.261 (0.931- 1.706)	0.134	0.901 (0.671- 1.210)	0.488
Charlson		0.908 (0.639- 1.291)	0.592	0.894 (0.598- 1.205)	0.360	1.127 (0.796- 1.597)	0.500	0.875 (0.608- 1.261)	0.475	0,965 (0.681- 1.367)	0.841
FFMI (kg/m2)		1.022 (0.924- 1.130)	0.673	0.904 (0.816- 1.002)	0.056	0.959 (0.851- 1.082)	0.496	1.113 (1.001- 1.238)	0.047	0.838 (0.752- 0.934)	0.001
TM6M (m)		0.999 (0.996- 1.001)	0.333	0.997 (0.995- 1.000)	0.022	1.000 (0.998- 1.002)	0.931	1.001 (0.999- 1.004)	0.273	0.997 (0.994- 1.000)	0.020

FEV1 (%)		1.000 (0.986- 1.014)	0.991	0.994 (0.980- 1.008)	0.377	0.988 (0.974- 1.002)	0.092	0.991 (0.976- 1.005)	0.211	1.000 (0.986- 1.015)	0.970
FVC (%)		1.011 (0.996- 1.027)	0.156	0.998 (0.983- 1.013)	0.785	0.982 (0.967- 0.997)	0.022	0.991 (0.975- 1.006)	0.245	1.010 (0.995- 1.026)	0.195
Ferritina (ng/mL)		1.001 (0.999 – 1.003)	0.351	0.998 (0.996 – 1.000)	0.069	1.000 (0.998 – 1.001)	0.667	1.002 (1.000 – 1.003)	0.099	0.998 (0.996 – 1.000)	0.060
Saturación transferrina (%)		1.014 (0.991 – 1.037)	0.240	0.954 (0.930 – 0.978)	<0.001	0.954 (0.930 – 0.979)	<0.001	1.016 (0.993 – 1.040)	0.172	0.977 (0.955 – 1.000)	0.055

Nota. ACSL4= *acyl-CoA synthetase long-chain family member 4*, sTfR1= receptor soluble de transferrina-1, AIFM2= factor inductor de apoptosis mitocondrial 2, GPX4= glutatión peroxidasa 4, sTfR1/GPX4 = ratio (sTRF1 X 10³)/GPX4, Exacerbaciones = episodios agudos con necesidad de tratamiento con antibióticos o corticoides sistémicos, TM6M= test de marcha de 6 minutos, FVC= capacidad vital forzada, FEV₁= volumen espiratorio forzado en el primer segundo, FFMI= índice de masa libre de grasa. Las variables resaltadas en negrita mostraron significación estadística.

Modelo B: regresión logística multivariante

		ACSL4		sTfR1		AIFM2		GPX4		sTfR1/GPX4	
		OR (95% CI)	p	OR (95% CI)	P	OR (95% CI)	P	OR (95% CI)	P	OR (95% CI)	p
Edad (años)		1.006 (0.962- 1.051)	0.8 08	0.998(0.954- 1.045)	0.939	0.994 (0.950- 1.041)	0.803	1.040 (0.991- 1.091)	0.111	0.993 (0.947- 1.042)	0.777
Sexo											
	Hombre	1		1		1		1		1	
	Mujer	1.701 (0.795- 3.640)	0.1 71	1.831 (0.845- 3.965)	0.125	0.718 (0.334- 1.547)	0.398	0.584 (0.260- 1.325)	0.200	2.085 (0.917- 4.740)	0.079
Fumador											
	Exfumador	1		1		1		1		1	
	Activo	0.751 (0.368-1.535)	0.4 33	0.667 (0.333- 1.382)	0.276	0.849 (0.408- 1.764)	0.660	0.952 (0.444- 2.040)	0.899	0.999 (0.466- 2.143)	0.998
Exacerbación											
	0-1	1		1		1		1		1	

	>1	0.776 (0.397- 1.514)	0.4 57	1.378 (0.692- 2.743)	0.361	0.830 (0.416- 1.654)	0.596	0.480 (0.232 -0.994)	0.048	2.709 (1.308- 5.609)	0.007
Puntuación mMRC		1.095 (0.740- 1.620)	0.6 51	0.906 (0.611- 1.342)	0.622	1.508 (1.007- 2.257)	0.046	1.435 (0.952- 2.162)	0.084	0.668 (0.442- 1.012)	0.057
Índice Charlson		0.940 (0.637- 1.388)	0.7 56	0.771 (0.515- 1.154)	0.206	1.089 (0.732- 1.621)	0.672	0.849 (0.563- 1.278)	0.432	1.075 (0.713- 1.621)	0.729
FFMI (kg/m2)		0.994 (0.880- 1.122)	0.9 21	0.941 (0.830- 1.067)	0.343	0.989 (0.872- 1.123)	0.869	1.151 (1.007- 1.316)	0.040	0.812 (0.706- 0.934)	0.004
TM6M (m)		0.998 (0.995 -1.001)	0.1 73	0.997 (994- 1.000)	0.080	1.003 (0.999- 1.006)	0.103	1.003 (1.000- 1.006)	0.084	0.998 (0.971- 1.000)	0.045
FEV1 (%)		0.989 (0.964- 1.049)	0.3 68	0.999 (0.974- 1.025)	0.953	0.999 (0.973- 1.026)	0.959	0.983 (0.957- 1.010)	0.214	0.998 q(0.971 – 1.025)	0.866

FVC (%)		1.026 (0.999- 1.053)	0.0 55	1.005 (0.980- 1.031)	0.690	0.987 (0.962- 1.013)	0.327	1.000 (0.975- 1.026)	0.980	1.020 (0.993- 1.048)	0.152
Ferritina (ng/mL)		1.003 (1.000 – 1.005)	0.0 54	1.000 (0.998 – 1.003)	0.885	0.999 (0.997 - 1.002)	0.663	1.002 (0.999 – 1.005)	0.121	0.999 (0.996 – 1.002)	0.462
Saturación transferrina (%)		0.994 (0.964 – 1.026)	0.7 19	0.937 (0.904 – 0.971)	<0.001	0.958 (0.926 – 0.991)	0.014	1.002 (0.970 – 1.036)	0.882	0.979 (0.947 – 1.012)	0.208

Nota. ACSL4= *acyl-CoA synthetase long-chain family member 4*, sTfr1= receptor soluble de transferrina-1, AIFM2= factor induktor de apoptosis mitocondrial 2, GPX4= glutatión peroxidasa 4, sTfR1/GPX4 = ratio ($sTRF1 \times 10^3$)/GPX4, Exacerbaciones = episodios agudos con necesidad de tratamiento con antibióticos o corticoides sistémicos, TM6M= test de marcha de 6 minutos, FVC= capacidad vital forzada, FEV₁= volumen espiratorio forzado en el primer segundo, FFMI= índice de masa libre de grasa. Las variables resaltadas en negrita mostraron significación estadística.

5.4. MIRFP COMO PREDICTORES DE CAPACIDAD DE EJERCICIO

Un total de 46 pacientes recorrieron menos de 350 metros en el TM6M. De estos, 35 presentaban bajos niveles de GPX4, 30 niveles altos de sTfR1, 25 niveles altos de AIFM2, 25 niveles altos de ACSL4 y 35 pacientes con cociente elevado sTfR1/GPX4.

El análisis univariado mostró que los bajos niveles de GPX4 ($p = 0,025$), los niveles altos de sTfR1 ($p = 0,016$) y un cociente elevado sTfR1/GPX4 ($p = 0,002$) fueron predictores significativos de una menor distancia recorrida. Asimismo, los valores absolutos de sTfR1 ($p < 0,001$) y del cociente sTfR1/GPX4 ($p < 0,001$) también se asociaron significativamente con un bajo rendimiento en el TM6M. En cambio, ACSL4 y AIFM2 no mostraron asociación significativa.

En el análisis multivariado (Tabla 8), se confirmó que niveles bajos de GPX4 (OR 5,475; IC95% 2,000–14,991; $p = 0,001$) y un cociente elevado sTfR1/GPX4 (OR 4,293; IC95% 1,728–10,665; $p < 0,001$), así como los valores absolutos de sTfR1 (OR 1,000; IC95% 1,000–1,000; $p < 0,001$) y del cociente sTfR1/GPX4 (OR 1,000; IC95% 1,000–1,000; $p < 0,001$), fueron predictores independientes de una menor capacidad de ejercicio. ACSL4 y AIFM2 no mostraron valor predictivo significativo en este análisis. Aunque los valores dicotomizados de sTfR1 no alcanzaron significación estadística (OR 2,159; IC95% 0,927–5,024; $p = 0,074$), sugirieron una tendencia al riesgo.

Tabla 8

Moléculas implicadas en la ferroptosis como predictores en la distancia recorrida en el test de marcha 6 minutos (TM6M)

Factores predictivos de recorrer menos de 350 metros en el TM6M					
	B	p	OR	95%IC HR	
				Inferior	Superior
ACSL4 (pg/mL)	-0.001	0.110	0.999	0.998	1.000
sTfR1 (mg/L)	0.000	<0.001	1.000	1.000	1.001
AIFM2 (ng/mL)	0.024	0.697	1.024	0.947	1.030
GPX4 (pg/mL)	0.000	0.203	1.000	0.999	1.000
sTfR1/GPX4	0.000	<0.001	1.00	1.000	1.001
Alto ACSL4	0.166	0.590	1.180	0.527	2.642
Alto sTfR1	0.769	0.074	2.159	0.927	5.024
Alto AIFM2	0.062	0.885	1.064	0.459	1.031
Bajo GPX4	1.700	0.001	5.475	2.000	14.991
Alto sTfR1/GPX4	1.457	0.002	4.293	1.728	10.665

Nota. Todas las variables fueron ajustadas por edad, sexo, índice de Charlson, riesgo elevado de exacerbación (definido como ≥ 2 exacerbaciones en el año previo o ≥ 1 hospitalización), volumen espiratorio forzado en el primer segundo (FEV₁), estado tabáquico, ferritina y saturación de transferrina. ACSL4= *acyl-CoA synthetase long-chain family member 4*, sTfR1= receptor soluble de transferrina-1, AIFM2= factor inductor de apoptosis mitocondrial 2, GPX4= glutatión peroxidasa 4, sTfR1/GPX4 = ratio (sTfR1 $\times 10^3$)/GPX4. Las variables resaltadas en negrita mostraron significación estadística.

5.5. MOLÉCULAS DE FERROPTOSIS COMO PREDICTORES DE DESATURACIÓN DE OXÍGENO DURANTE EL EJERCICIO

Un total de 47 pacientes presentaron desaturación de oxígeno (OD) durante el test de marcha de seis minutos. De ellos, 30 presentaban niveles bajos de GPX4, 32 niveles elevados de sTfR1, 24 niveles altos de AIFM2, 21 niveles elevados de ACSL4 y 32 un cociente elevado sTfR1/GPX4.

El análisis univariado mostró que los niveles altos de sTfR1 ($p = 0,004$) y del cociente sTfR1/GPX4 ($p = 0,048$), así como los valores absolutos de AIFM2 ($p = 0,016$), sTfR1 ($p = 0,031$) y sTfR1/GPX4 ($p = 0,016$), fueron predictores significativos de OD. Por el contrario, los niveles séricos absolutos y dicotomizados de GPX4 y ACSL4, así como los valores dicotomizados de AIFM2, no se identificaron como predictores de OD.

En el análisis multivariado (Tabla 9), se confirmó que niveles elevados de sTfR1 (OR: 3,974; IC95%: 1,583–9,978; $p = 0,003$) y un cociente elevado sTfR1/GPX4 (OR: 3,324; IC95%: 1,349–8,190; $p = 0,009$), así como los valores absolutos de sTfR1 (OR: 1,000; IC95%: 1,000–1,000; $p = 0,014$) y del cociente sTfR1/GPX4 (OR: 1,000; IC95%: 1,000–1,000; $p = 0,001$), se asociaron positivamente con OD. En cambio, los niveles séricos absolutos y dicotomizados de AIFM2, ACSL4 y GPX4 no demostraron ser predictores independientes de OD.

Tabla 9

Moléculas implicadas en la ferroptosis como predictores de la desaturación de oxígeno en el test de marcha 6 minutos (TM6M)

Factores predictivos de desaturación de oxígeno durante TM6M					
	B	p	OR	Inferior	Superior
ACSL4 (pg/mL)	-0.001	0.314	0.999	0.998	1.001
sTfR1 (mg/L)	0.000	0.014	1.000	1.000	1.000
AIFM2 (ng/mL)	0.103	0.091	1.109	0.984	1.010
GPX4 (pg/mL)	0.000	0.384	1.000	1.000	1.000
sTfR1/GPX4	0.000	0.001	1.000	1.000	1.000
Alto ACSL4	-0.249	0.549	0.780	0.346	1.760
Alto sTfR1	1.378	0.003	3.974	1.583	9.978
Alto AIFM2	-0.637	0.146	0.529	0.224	1.248
Bajo GPX4	-0.566	0.207	0.568	0.236	1.369
Alto sTfR1/GPX4	2.257	0.009	3.324	1.349	8.190

Nota. Todas las variables fueron ajustadas por edad, sexo, índice de Charlson, riesgo elevado de exacerbación (definido como ≥ 2 exacerbaciones en el año previo o ≥ 1 hospitalización), volumen espiratorio forzado en el primer segundo (FEV₁), estado tabáquico, ferritina y saturación de transferrina. ACSL4= acyl-CoA synthetase long-chain family member 4, sTfR1= receptor soluble de transferrina-1, AIFM2= factor inductor de apoptosis mitocondrial 2, GPX4= glutatióperoxidasa 4, sTfR1/GPX4 = ratio (sTRF1 $\times 10^3$)/GPX4. Las variables resaltadas en negrita mostraron significación estadística.

5.6. MOLÉCULAS DE FERROPTOSIS COMO PREDICTORES DE EXACERBACIÓN MODERADA

Durante el seguimiento de 12 meses, 88 de los 179 pacientes con EPOC estable presentaron al menos una exacerbación moderada. Entre ellos, 72 tenían niveles bajos de GPX4, 57 niveles altos de sTfR1, 55 niveles altos de AIFM2, 51 niveles altos de ACSL4 y 68 presentaban un cociente sTfR1/GPX4 elevado.

El análisis univariado mostró que los niveles bajos de GPX4 ($p = 0,017$), los niveles altos de sTfR1 ($p = 0,017$) y del cociente sTfR1/GPX4 ($p = 0,001$), así como los valores absolutos de sTfR1 ($p = 0,004$) y sTfR1/GPX4 ($p = 0,009$), se asociaron significativamente con un mayor riesgo de exacerbación moderada. Por el contrario, los niveles elevados de AIFM2 o ACSL4, así como los valores absolutos de GPX4, AIFM2 o ACSL4, no se identificaron como factores de riesgo.

Estos hallazgos fueron reforzados por el análisis multivariado (Tabla 10), los niveles bajos de GPX4 (HR: 2,301; IC95%: 1,426–3,713; $p = 0,001$) (Figura 8), niveles altos de sTfR1 (HR: 1,850; IC95%: 1,212–2,823; $p = 0,004$) (Figura 9) y un cociente elevado sTfR1/GPX4 (HR: 2,223; IC95%: 1,441–3,428; $p < 0,001$) (Figura 12), así como los valores absolutos de GPX4 (HR: 1,000; IC95%: 1,000–1,000; $p = 0,049$), sTfR1 (HR: 1,000; IC95%: 1,000–1,001; $p = 0,001$) y del cociente sTfR1/GPX4 (HR: 1,000; IC95%: 1,000–1,000; $p = 0,001$), se comportaron como factores de riesgo independientes para exacerbaciones moderadas de la EPOC.

En cambio, los niveles séricos de ACSL4 (Figura 11) y AIFM2 (Figura 10), tanto absolutos como dicotomizados, no mostraron valor predictivo significativo en este modelo.

Tabla 10:

Moléculas relacionadas con la ferroptosis como predictores de exacerbaciones en la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC)

Factores predictivos de exacerbación de EPOC					
	B	p	HR	95%IC HR	
				Inferior	Superior
ACSL4 (pg/mL)	0.000	0.873	1.000	0.999	1.001
sTfR1 (mg/L)	0.000	0.001	1.000	1.000	1.001
AIFM2 (ng/mL)	0.007	0.823	1.007	0.946	1.072
GPX4 (pg/mL)	0.000	0.049	1.000	1.000	1.000
sTfR1/GPX4	0.000	0.001	1.000	1.000	1.000
Alto ACSL4	0.002	0.992	1.002	0.665	1.001
Alto sTfR1	0.615	0.004	1.850	1.212	2.823
Alto AIFM2	0.234	0.291	1.263	0.818	1.949
Bajo GPX4	0.833	0.001	2.301	1.426	3.713
Alto sTfR1/GPX4	0.799	<0.001	2.223	1.441	3.428

Nota. Todas las variables fueron ajustadas por edad, sexo, índice de Charlson, riesgo elevado de exacerbación (definido como ≥ 2 exacerbaciones en el año previo o ≥ 1 hospitalización), volumen espiratorio forzado en el primer segundo (FEV₁), estado tabáquico, ferritina y saturación de transferrina. ACSL4= *acyl-CoA synthetase long-chain family member 4*, sTfR1= receptor soluble de transferrina-1, AIFM2= factor inductor de apoptosis mitocondrial 2, GPX4= glutatión peroxidasa 4, sTfR1/GPX4 = ratio (sTRF1x10³)/GPX4. Las variables resaltadas en negrita mostraron significación estadística.

Figura 8

Tiempo libre de agudización estratificado por niveles de glutatión peroxidasa 4 (GPX4) en pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica

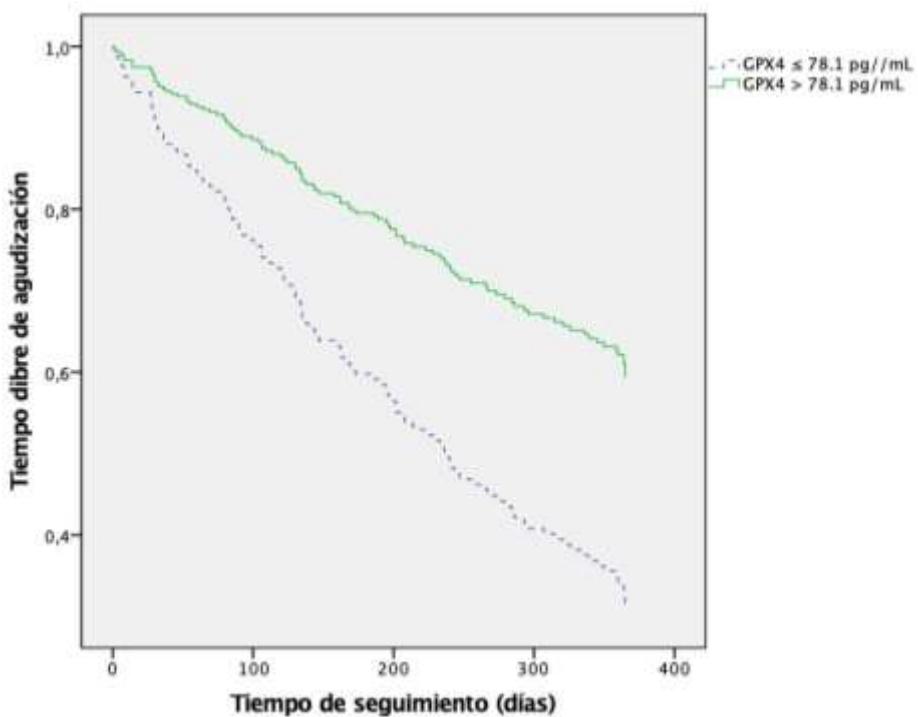


Figura 9

Tiempo libre de agudización estratificado por niveles del receptor soluble de la transferrina ($sTfR1$) en pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica

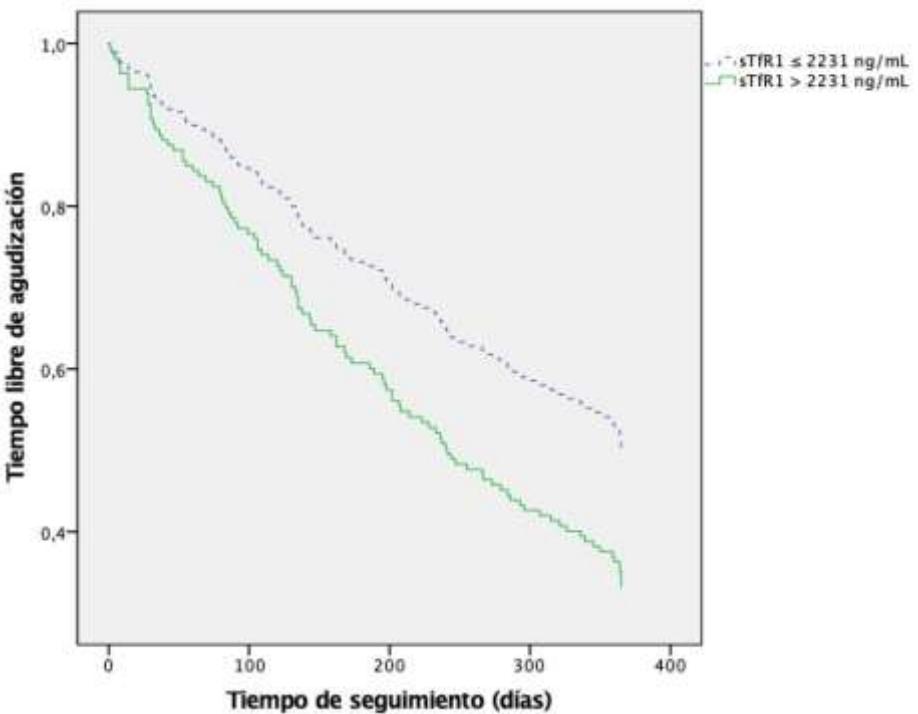


Figura 10

Tiempo libre de agudización estratificado por niveles del factor inductor de apoptosis mitocondrial 2 (AIFM2) en pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica

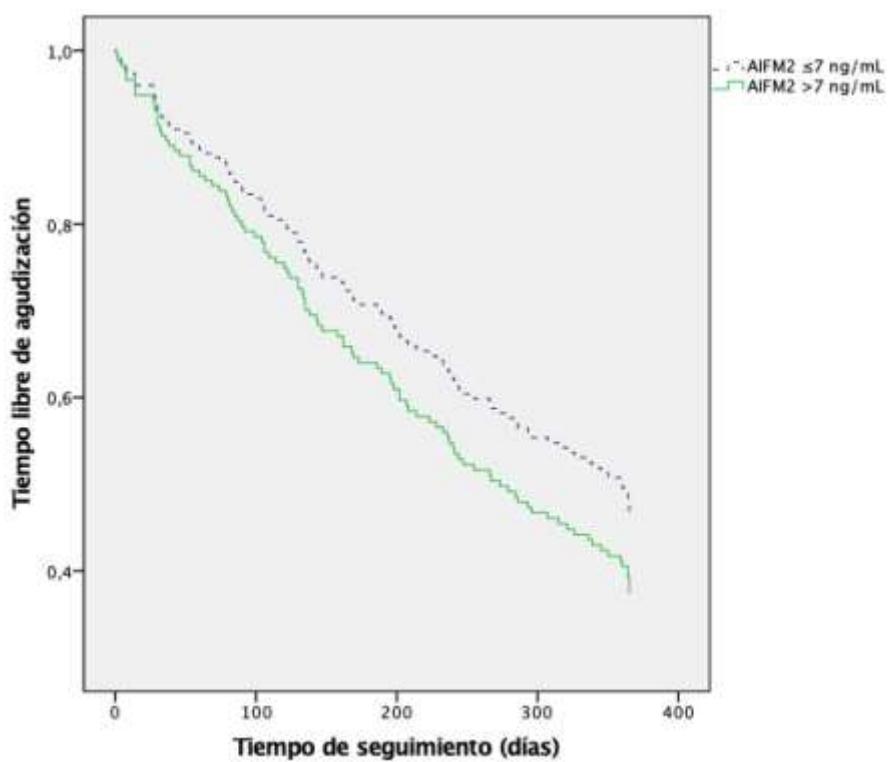


Figura 11

Tiempo libre de agudización estratificado por niveles del Acyl-CoA synthetase long-chain family member 4 (ACSL4) en pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica

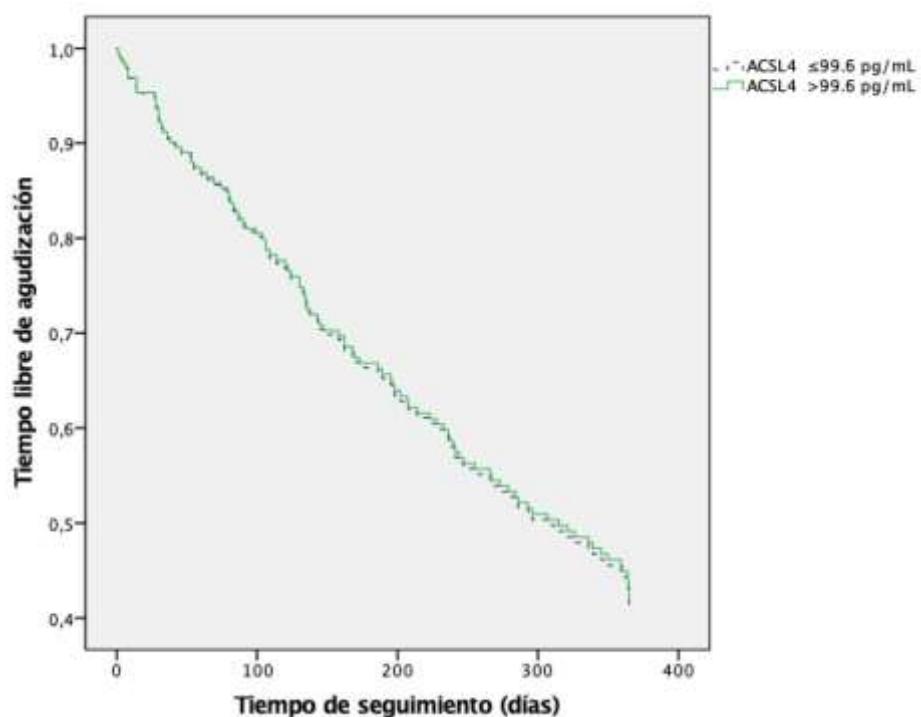
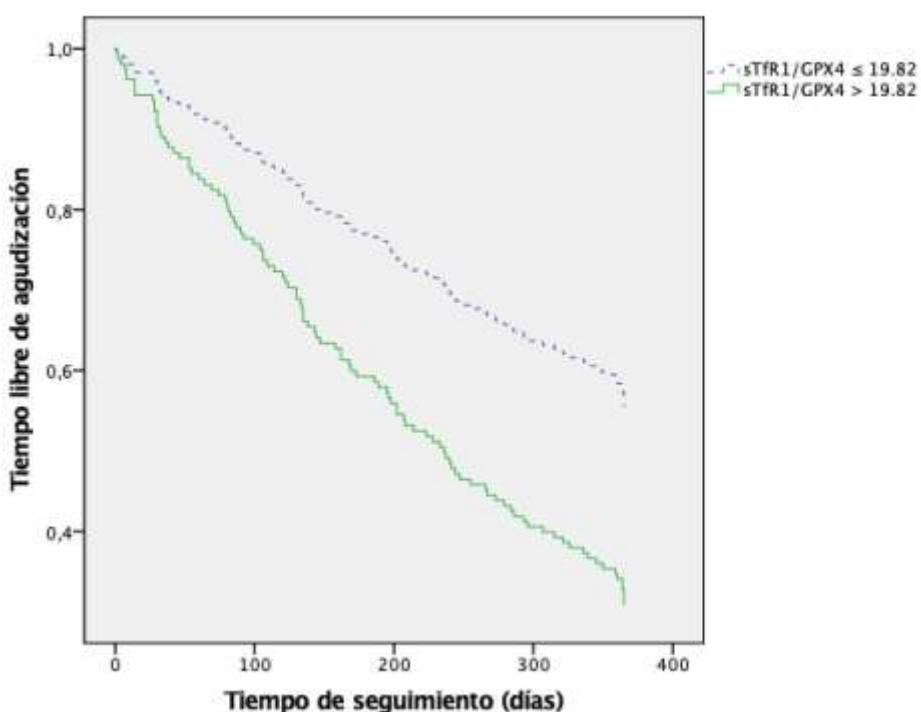


Figura 12

Tiempo libre de agudización estratificado por niveles del cociente sTfR1/GPX4 en pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica



5.7. MOLÉCULAS DE FERROPTOSIS COMO PREDICTORES DE EXACERBACIÓN GRAVE (HOSPITALIZACIÓN)

Durante el seguimiento, 30 pacientes fueron hospitalizados con diagnóstico de exacerbación grave de EPOC. De estos, 25 presentaban bajos niveles de GPX4, 22 niveles elevados de sTfR1, 20 niveles altos de AIFM2, 11 niveles elevados de ACSL4 y 25 presentaban un cociente sTfR1/GPX4 elevado.

El análisis univariado mostró que bajos niveles de GPX4 ($p = 0,014$), los niveles altos de sTfR1 ($p = 0,005$) y cociente sTfR1/GPX4 ($p = 0,003$), así como los valores absolutos de sTfR1 y del cociente sTfR1/GPX4 (ambos $p < 0,001$), se asociaron significativamente con un mayor riesgo de hospitalización por EPOC.

En el análisis multivariado (Tabla 11), se identificaron como factores de riesgo independientes los niveles bajos de GPX4 (HR: 3,753; IC95%: 1,339–10,521; $p = 0,012$) (Figura 13), los niveles elevados de sTfR1 (R: 2,970; IC95%: 1,247–7,071; $p = 0,014$) (Figura 14) y un cociente sTfR1/GPX4 elevado (HR: 3,668; IC95%: 1,380–9,750; $p = 0,009$) (Figura 17). También se observaron asociaciones significativas con los valores absolutos de sTfR1

(HR: 1,000; IC95%: 1,000–1,000; p = 0,049) y del cociente sTfR1/GPX4 (HR: 1,000; IC95%: 1,000–1,000; p = 0,024).

Por el contrario, ACSL4 (Figura 16), AIFM2 (**Figura 15**) y los niveles absolutos de GPX4 no mostraron valor predictivo independiente en este análisis.

Tabla 11

Moléculas relacionadas con la ferroptosis como predictores de exacerbaciones en la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC)

Factores predictivos de exacerbación severa (hospitalización) de EPOC					
				95%IC HR	
	B	p	HR	Inferior	Superior
ACSL4 (pg/mL)	0.001	0.587	1.000	0.998	1.001
sTfR1 (mg/L)	0.000	0.049	1.000	1.000	1.000
AIFM2 (ng/mL)	0.031	0.566	1.031	0.928	1.146
GPX4 (pg/mL)	-0.001	0.260	0.999	0.997	1.001
sTfR1/GPX4	0.000	0.024	1.000	1.000	1.000
Alto ACSL4	-0.355	0.390	0.701	0.312	1.575
Alto sTfR1	1.088	0.014	2.970	1.247	7.071
Alto AIFM2	0.515	0.224	1.674	0.724	3.869
Bajo GPX4	1.323	0.012	3.753	1.339	10.521
Alto sTfR1/GPX4	1.300	0.009	3.668	1.380	9.750

Nota. Todas las variables fueron ajustadas por edad, sexo, índice de Charlson, riesgo elevado de exacerbación (definido como ≥2 exacerbaciones en el año previo o ≥1 hospitalización), volumen espiratorio forzado en el primer segundo (FEV₁), estado tabáquico, ferritina y saturación de transferrina. ACSL4= acyl-CoA synthetase long-chain family member 4, sTfR1= receptor soluble de transferrina-1, AIFM2= factor inductor de apoptosis mitocondrial 2, GPX4= glutatión peroxidasa 4, sTfR1/GPX4 = ratio (sTRF1 X 10³)/GPX4. Las variables resaltadas en negrita mostraron significación estadística.

Figura 13

Tiempo libre de ingreso estratificado por niveles de la glutatión peroxidasa 4 (GPX4) en pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica

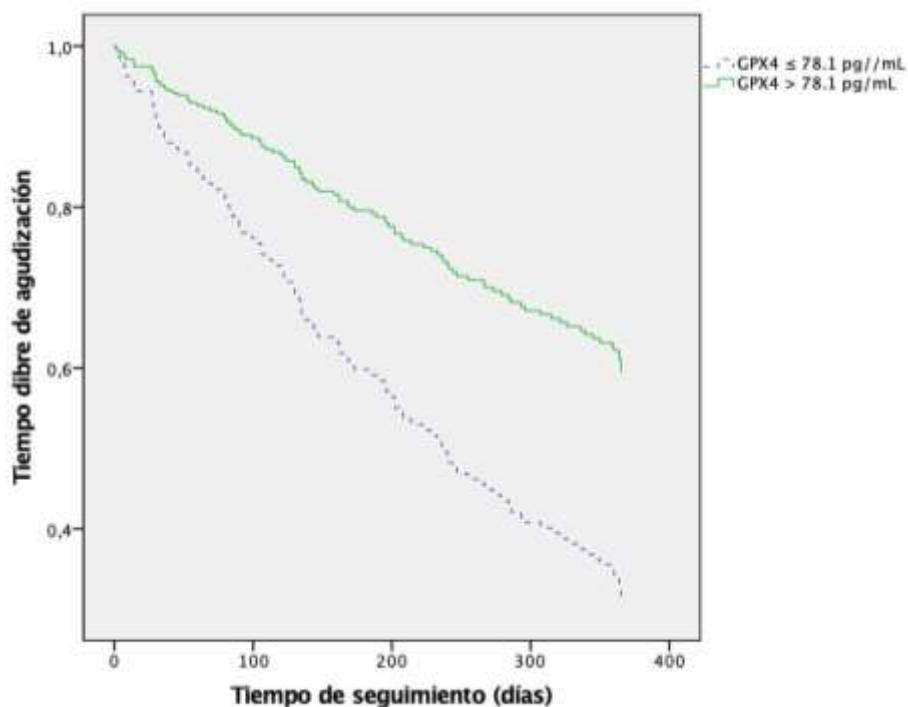


Figura 14

Tiempo libre de ingreso estratificado por niveles del factor soluble de la transferrina (sTfR1) en pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica

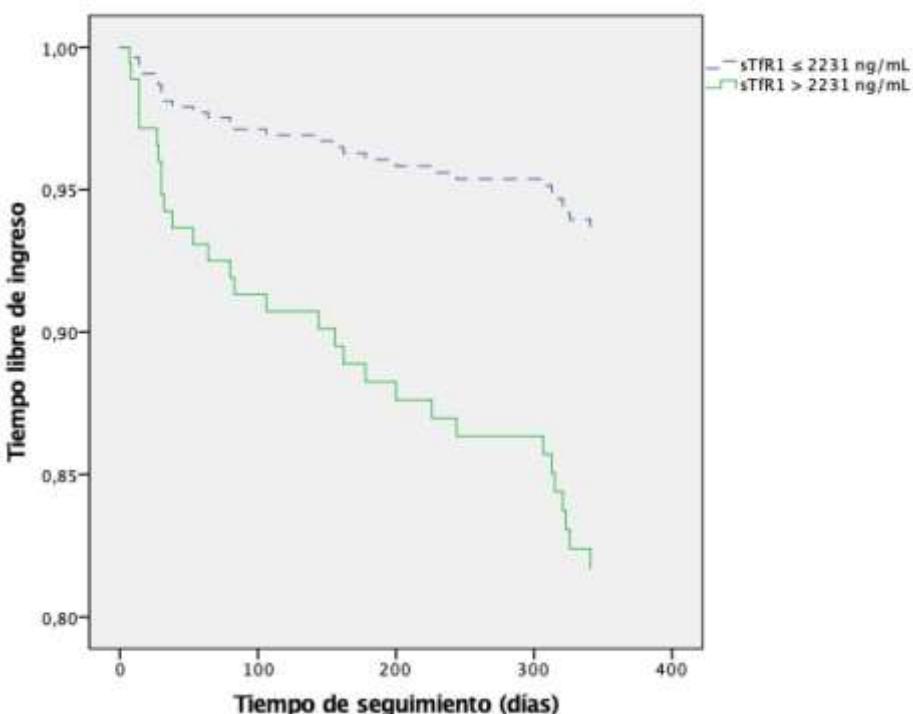


Figura 15

Tiempo libre de ingreso estratificado por niveles del factor inductor de apoptosis mitocondrial 2 (AIFM2) en pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica

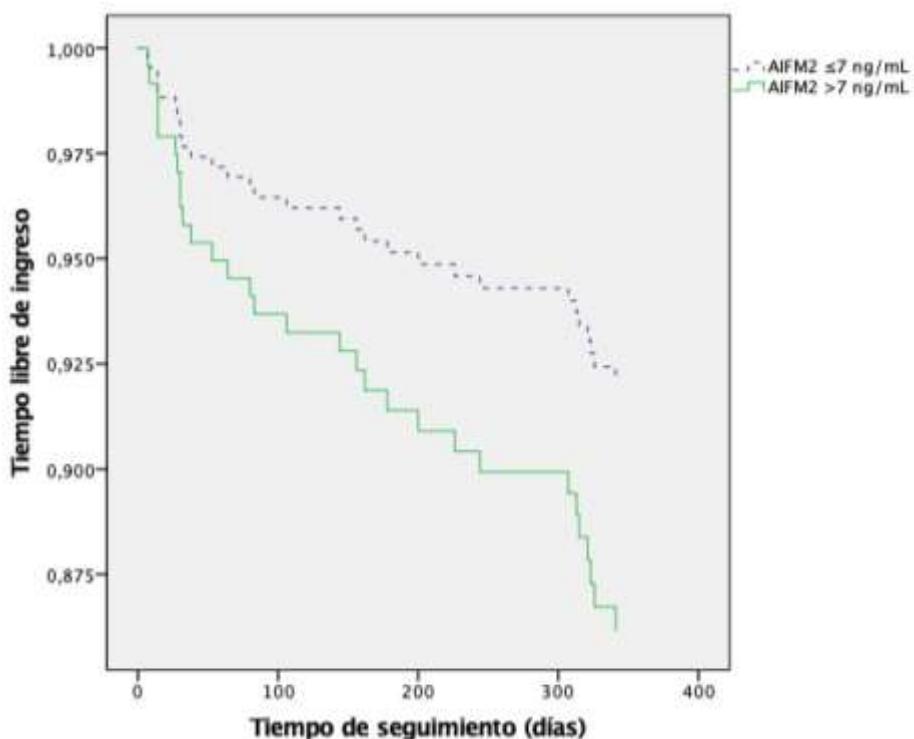


Figura 16

Tiempo libre de ingreso estratificado por niveles del Acyl-CoA synthetase long-chain family member 4 (ACSL4) en pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica

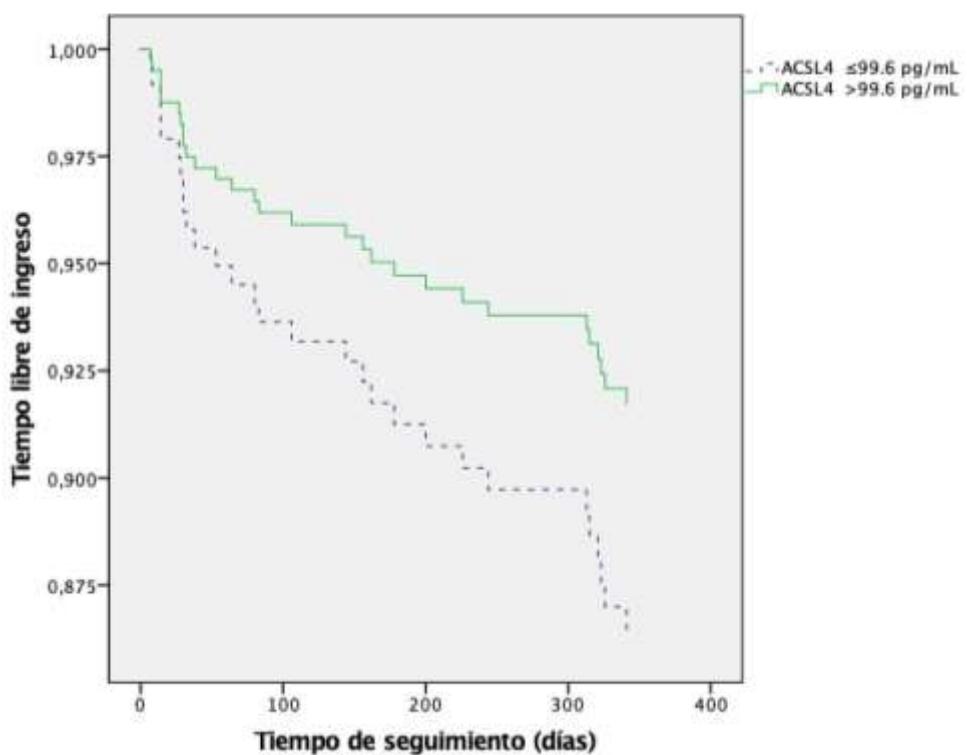
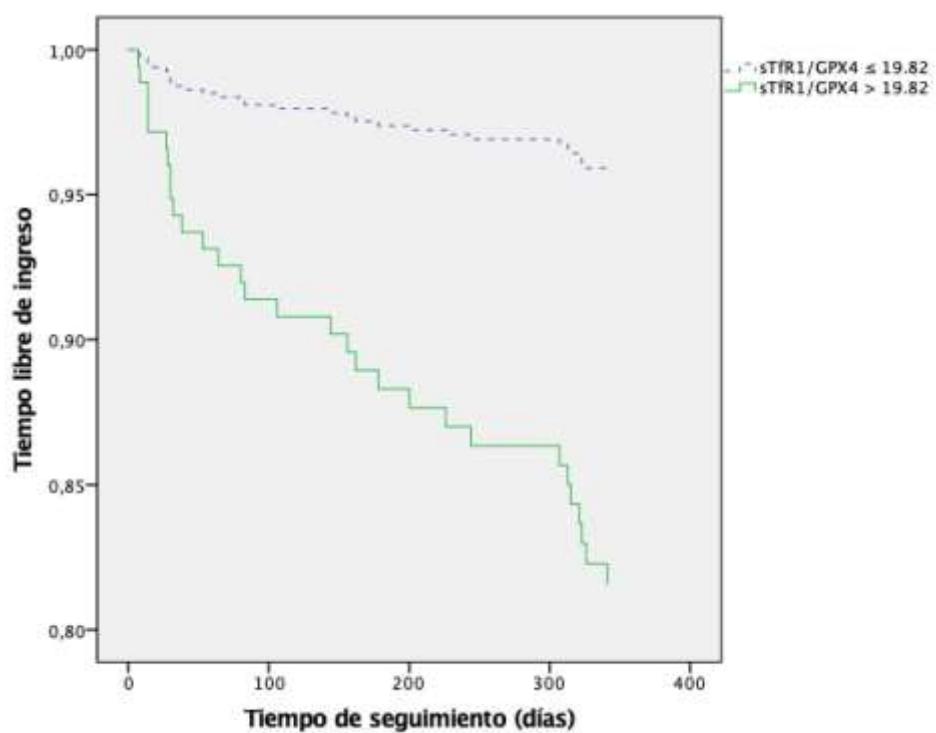


Figura 17

Tiempo libre de ingreso estratificado por niveles del cociente sTfR1/GPX4 en pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica



6. DISCUSIÓN

Este estudio constituye una de las primeras aproximaciones clínicas en humanos a la relación entre ferroptosis y la EPOC estable, al analizar simultáneamente los niveles séricos de cuatro biomarcadores relacionados con esta forma de muerte celular: ACSL4, sTfR1, AIFM2 y GPX4.

Hasta ahora, la evidencia sobre la implicación de la ferroptosis en la EPOC provenía fundamentalmente de modelos animales o celulares. Los resultados presentados aportan nuevos elementos que permiten plantear hipótesis sobre la participación de la ferroptosis en la fisiopatología, pronóstico y fenotipado clínico de la EPOC.

6.1. ALTERACIONES SÉRICAS DE BIOMARCADORES DE FERROPTOSIS EN LA EPOC

Uno de los hallazgos más consistentes y clínicamente relevantes de nuestro estudio fue el aumento significativo de sTfR1 y la disminución marcada de GPX4 en suero en los pacientes con EPOC frente a los controles fumadores. No obstante, no se encontraron diferencias significativas entre ambos grupos en el análisis de AIFM2 y ACSL4.

6.1.1. ACSL4

La enzima ACSL4 ha sido identificada en estudios preclínicos como un regulador clave de la ferroptosis, promoviendo la incorporación de lípidos poliinsaturados en fosfolípidos de membrana susceptibles a la peroxidación. Esta modificación estructural favorece la muerte celular no apoptótica característica de este proceso (Doll *et al.*, 2017; Yuan *et al.*, 2016). En modelos animales y celulares de EPOC inducidos por humo de cigarrillo, se ha descrito una sobreexpresión de ACSL4 en epitelio bronquial, acompañada por biomarcadores clásicos de ferroptosis como el aumento de MDA y la disminución de glutatión (Qin *et al.*, 2024; Y. Wang & Xia, 2023). Esta evidencia preclínica sugiere que ACSL4 podría participar activamente en la degradación estructural del tejido pulmonar propia de la EPOC.

Sin embargo, nuestros hallazgos clínicos contrastan con esos modelos experimentales. En nuestra cohorte, no se encontraron diferencias significativas en los niveles séricos de

ACSL4 entre pacientes con EPOC estable y fumadores controles sin enfermedad ($p=0.553$), ni tampoco se observaron asociaciones entre ACSL4 y variables clínicas clave como la distancia recorrida en el test de marcha de seis minutos, el riesgo de exacerbaciones ni el grado de obstrucción bronquial (Tabla 4, Tabla 8).

Esta discrepancia podría deberse a varios factores. Por un lado, es posible que los cambios en la expresión de ACSL4 se limiten al nivel tisular (pulmonar o epitelial) y no se reflejen en circulación sistémica, al menos en fases clínicas estables. Por otro, hay que considerar las limitaciones técnicas de los ensayos ELISA empleados para medir ACSL4 en suero, cuya sensibilidad aún no ha sido ampliamente validada (Kang *et al.*, 2022).

A nivel molecular, es posible que la contribución de ACSL4 a la ferroptosis en la EPOC esté condicionada por mecanismos locales más complejos, que incluyan la cooperación funcional con lipoxigenasas (enzimas responsables de la oxidación enzimática de lípidos poliinsaturados). En este sentido, Shah *et al.* demostraron que la actividad conjunta de ACSL4 y la lipoxigenasa ALOX15 es esencial para la ejecución eficiente de la ferroptosis (R. Shah *et al.*, 2018). Estos hallazgos han sido reforzados por estudios más recientes como el de Bouchaoui *et al.*, quienes demostraron que la inhibición combinada de ACSL4 y las lipoxigenasas 15/15B previene de forma significativa la ferroptosis inducida por hierro y ácido araquidónico en neuronas dopaminérgicas, subrayando que ambas rutas metabólicas actúan de manera sinérgica en la inducción del daño lipídico oxidativo (Bouchaoui *et al.*, 2023). Asimismo, la regulación postraduccional de ACSL4, como la SUMOilación que incrementa su estabilidad, ha sido recientemente descrita como un mecanismo clave que favorece la sensibilidad celular a la ferroptosis en modelos neuronales (W. Liu *et al.*, 2025).

Este tipo de regulación postraduccional podría contribuir a explicar por qué, pese a la ausencia de diferencias significativas entre grupos, observamos una correlación positiva entre los niveles séricos de ACSL4 y GPX4 ($r = 0.330$; $p < 0.001$), así como una correlación negativa con AIFM2 ($r = -0.320$; $p < 0.001$). Esto sugeriría que ACSL4 podría formar parte de una red interrelacionada de regulación de la ferroptosis, aunque sin aportar valor pronóstico o funcional independiente en nuestra muestra.

A pesar de la ausencia de diferencias significativas en suero, no puede descartarse que ACSL4 desempeñe un papel clave a nivel tisular en subgrupos específicos de pacientes. En fases agudas de exacerbación o en fenotipos con mayor inflamación sistémica, la activación de vías pro-ferroptóticas podría ser más pronunciada. Además, el análisis de su expresión en biopsias bronquiales o lavado broncoalveolar podría revelar patrones de activación local no detectables en circulación periférica. En este sentido, ACSL4 podría contribuir a definir un subfenotipo con mayor sensibilidad epitelial al estrés oxidativo, particularmente si se combina con otros marcadores como GPX4 o la lipoxigenasa ALOX15. Por tanto, aunque nuestros hallazgos no apoyan su uso como biomarcador sistémico en EPOC estable, su potencial como marcador tisular o como parte de un panel multimodal merece exploración adicional en estudios futuros.

En conclusión, aunque la implicación de ACSL4 en la ferroptosis asociada a la EPOC ha sido ampliamente respaldada por estudios moleculares (Doll *et al.*, 2017; Jia *et al.*, 2023; Qin *et al.*, 2024; Y. Wang & Xia, 2023; Yuan *et al.*, 2016), nuestros datos no confirman su utilidad como biomarcador sistémico en pacientes ambulatorios estables. Estos hallazgos refuerzan la necesidad de estudios que combinen mediciones séricas y tisulares, así como análisis en fases agudas de la enfermedad, para evaluar el verdadero papel clínico de ACSL4 en la progresión de la EPOC.

6.1.2. sTfR1

La proteína sTfR1, forma soluble del receptor de transferrina, ha sido clásicamente utilizada como un marcador indirecto de la actividad eritropoyética y del metabolismo del hierro (Beguin, 2003; Speeckaert *et al.*, 2010). A diferencia de la ferritina, sus niveles no se ven tan afectados por la inflamación sistémica, lo que la convierte en una herramienta potencialmente útil para evaluar la captación intracelular de hierro en contextos clínicos complejos como la EPOC (Beerenhout *et al.*, 2002; Mast *et al.*, 1998).

Diversos estudios han evidenciado que la sobreexpresión de su forma transmembrana (TfR1) favorece la captación intracelular de hierro y promueve la sensibilización celular a la ferroptosis, especialmente en modelos donde el hierro libre actúa como catalizador de la peroxidación lipídica (Feng *et al.*, 2020; Park & Chung, 2019). En este contexto, los niveles séricos de sTfR1 se han utilizado como un reflejo periférico de la demanda

intracelular de hierro y se han relacionado con procesos inflamatorios y degenerativos en tejidos con alta dependencia férrica, como el cartílago y el epitelio respiratorio (Charlebois & Pantopoulos, 2023; Wang *et al.*, 2025).

En modelos preclínicos de EPOC inducidos por humo de cigarrillo, se ha descrito un aumento de la expresión de TfR1 en células epiteliales pulmonares, asociado a fenómenos de ferritinofagia y acumulación intracelular de hierro, lo que intensifica el daño oxidativo y facilita la progresión de la muerte celular ferroptótica (Park & Chung, 2019). Este bucle de retroalimentación positiva entre estrés oxidativo y captación férrica ha sido identificado como un eje patogénico relevante en la degradación del parénquima pulmonar.

En nuestro estudio, se observaron niveles séricos significativamente más elevados de sTfR1 en pacientes con EPOC estable en comparación con fumadores sin diagnóstico de la enfermedad ($p < 0.001$). Además, esta elevación se asoció significativamente con variables clínicas de relevancia funcional y pronóstica: los pacientes con niveles más altos de sTfR1 presentaron una menor distancia recorrida en el test de marcha de 6 minutos, así como un mayor riesgo de sufrir exacerbaciones moderadas y graves durante el seguimiento (Tabla 8, Tabla 10, Tabla 11). Estos hallazgos sugieren que sTfR1 podría reflejar un estado de disrupción en la homeostasis del hierro celular asociado a disfunción redox, lo que contribuiría a una mayor susceptibilidad a la ferroptosis en pacientes con EPOC, incluso en fases clínicas estables.

A nivel funcional, se ha propuesto que la sobreexpresión de sTfR1 favorece la captación de hierro no ligado a transferrina en contextos de estrés oxidativo o hipoxia, facilitando así la acumulación de hierro libre intracelular, un catalizador central de la peroxidación lipídica característica de la ferroptosis (X. Chen *et al.*, 2020; Konstorum *et al.*, 2020). Además, se ha descrito que esta señalización férrica puede intensificarse ante la inhibición de GPX4, generando un microambiente redox altamente susceptible a la inducción de muerte celular ferroptótica (Y. Wang & Xia, 2023). Esta interacción funcional entre sTfR1 y GPX4 será analizada con mayor detalle en los siguientes apartados.

No obstante, la interpretación de estos hallazgos debe hacerse con cautela. Aunque niveles elevados de sTfR1 podrían reflejar una mayor captación férrica celular en respuesta a estrés oxidativo, también es posible que estén condicionados por factores sistémicos no directamente relacionados con la fisiopatología pulmonar. Por ejemplo, situaciones de activación eritropoyética subclínica, como microanemias funcionales o una mayor rotación eritrocitaria, pueden elevar su concentración sérica sin implicar una alteración local. Asimismo, se ha descrito que su expresión varía en relación con el metabolismo del cartílago, aumentando durante etapas de crecimiento acelerado y disminuyendo en procesos degenerativos (Ras-Jiménez *et al.*, 2023; Speckaert *et al.*, 2010). Además, el vínculo entre sTfR1 y ferroptosis no es necesariamente unidireccional: en algunos contextos de diferenciación celular, su sobreexpresión puede tener efectos protectores frente al daño oxidativo, mientras que su inhibición puede activar rutas compensatorias que agravan el estrés mitocondrial (Wang *et al.*, 2025).

Por último, aunque sTfR1 ha sido tradicionalmente interpretado en el contexto de la anemia funcional, en nuestros pacientes no se observaron diferencias significativas en parámetros hematológicos como la hemoglobina o el hematocrito. Esto sugiere que los niveles elevados de sTfR1 podrían deberse a procesos no relacionados directamente con la eritropoyesis, como el estrés mitocondrial o la hipoxia local crónica, fenómenos descritos en la patogénesis de la EPOC incluso en fases estables (C.-L. Li *et al.*, 2024; M. Xu *et al.*, 2025).

A pesar de estas limitaciones, nuestros resultados refuerzan la hipótesis de que sTfR1 participa en una red compleja de regulación del metabolismo férrico y la sensibilidad a la ferroptosis en la EPOC. La correlación observada entre niveles séricos elevados de sTfR1 y peor rendimiento funcional sugiere que este marcador podría tener utilidad como predictor de progresión clínica. Sin embargo, para confirmar su relevancia, será necesario profundizar en su análisis en distintos tejidos y en diferentes fases evolutivas de la enfermedad, especialmente en situaciones de descompensación clínica o mayor carga inflamatoria.

6.1.3. GPX4

La selenoproteína GPX4 ha sido ampliamente reconocida como una enzima central en la defensa antioxidante intracelular y un regulador clave de la ferroptosis. Su función principal consiste en reducir los hidroperóxidos lipídicos en fosfolípidos de membrana, mediante glutatió (GSH), y preservar así la integridad de las membranas celulares frente al daño oxidativo (Yang *et al.*, 2014).

En modelos murinos de EPOC inducida por humo de cigarrillo, se ha demostrado una disminución significativa en la expresión y actividad de GPX4, lo que se acompaña de acumulación de ROS, acumulación de productos de peroxidación lipídica e incremento de citoquinas proinflamatorias como IL-8 e IL-1 β (Zhang *et al.*, 2021), lo que indica una exacerbación de la inflamación epitelial pulmonar. Estos efectos se atenúan al restaurar la actividad de GPX4 con antioxidantes, pero reaparecen al bloquear la vía NRF2, lo que resalta la relevancia del eje NRF2/SLC7A11/GPX4 en la regulación del daño oxidativo pulmonar (X. Liu *et al.*, 2022; Z. Zhao *et al.*, 2023). De hecho, se ha propuesto que la activación terapéutica de esta vía puede mitigar la progresión de enfermedades respiratorias crónicas como la EPOC (Liu *et al.*, 2025).

En nuestro estudio, los niveles séricos de GPX4 fueron significativamente más bajos en pacientes con EPOC estable en comparación con controles fumadores ($p < 0.001$). Este hallazgo clínico es congruente con la evidencia preclínica, y sugiere que la disfunción de GPX4 podría reflejar un desequilibrio sistémico en el control de la peroxidación lipídica incluso en fases estables de la enfermedad. Además, esta disminución se asoció de manera inversa con variables funcionales clave, como la distancia recorrida en el test de marcha de 6 minutos y la frecuencia de exacerbaciones durante el seguimiento (Tabla 8, Tabla 10, Tabla 11). Estos hallazgos sugieren que la pérdida de actividad antioxidante sistémica, reflejada por la reducción de GPX4, podría desempeñar un papel relevante en la progresión funcional de la EPOC, lo que respalda su potencial valor como biomarcador pronóstico.

Desde un punto de vista funcional, se ha observado que la inhibición de GPX4 no solo promueve la acumulación de peróxidos lipídicos, sino que también activa señales de muerte celular en múltiples tejidos, incluidos el epitelio pulmonar y el sistema nervioso

central. En este contexto, su actividad parece estar estrechamente ligada a la disponibilidad de glutatión y al estado redox intracelular, lo que subraya su papel como modulador crítico de la homeostasis oxidativa (Feng *et al.*, 2020; R. Shah *et al.*, 2018). Además, la inhibición experimental de GPX4 ha sido suficiente para inducir ferroptosis en células epiteliales respiratorias expuestas a humo de cigarrillo, mientras que su sobreexpresión ha demostrado efectos protectores frente a la peroxidación lipídica y la muerte celular (Y. Wang & Xia, 2023).

En nuestro análisis, los niveles séricos de GPX4 mostraron correlaciones significativas con otros biomarcadores ferroptóticos, como ACSL4 y AIFM2, lo que refuerza la hipótesis de que esta enzima participa en una red molecular interdependiente que regula la susceptibilidad epitelial al daño oxidativo. En particular, se observó una correlación negativa entre GPX4 y ACSL4 ($r = -0.330$; $p < 0.001$), y positiva con AIFM2 ($r = 0.351$; $p < 0.001$).

En concreto, la correlación negativa observada entre GPX4 y ACSL4 sugiere una relación funcional antagónica entre estos dos reguladores de la ferroptosis. Mientras ACSL4 favorece la inserción de ácidos grasos poliinsaturados en los fosfolípidos de membrana, aumentando así el sustrato disponible para la peroxidación lipídica, GPX4 actúa como un freno esencial a este proceso, reduciendo dichos peróxidos y previniendo la ejecución de la muerte celular ferroptótica. Esta oposición bioquímica entre ambos mediadores ha sido descrita en estudios moleculares previos, donde la inactivación de GPX4 potencia los efectos lesivos de ACSL4, y su coexpresión se encuentra finamente regulada para mantener la homeostasis redox (Doll *et al.*, 2017; R. Shah *et al.*, 2018).

De forma complementaria, la correlación positiva entre GPX4 y AIFM2 sugiere un eje defensivo coordinado frente al daño ferroptótico. Esta asociación podría reflejar una respuesta concertada de los sistemas antioxidantes ante un entorno oxidativo elevado, característica patogénica central de la EPOC. En este sentido, niveles bajos de GPX4 podrían comprometer la capacidad antioxidante global, siendo parcialmente compensados por un aumento de AIFM2 como mecanismo de protección.

No obstante, la interpretación de estos hallazgos debe considerar también las limitaciones metodológicas de los ensayos disponibles para cuantificar GPX4 en suero.

Aunque existen evidencias sólidas de su papel regulador en tejidos específicos, su utilidad como biomarcador sistémico aún carece de validación como biomarcador sistémico. Algunos estudios han señalado que la expresión de GPX4 puede estar sujeta a mecanismos de regulación posttraduccional o a la influencia de factores nutricionales, como la disponibilidad de selenio, lo que podría generar variaciones interindividuales no relacionadas exclusivamente con la patología pulmonar (Conrad & Proneth, 2020; M. Li *et al.*, 2023).

En resumen, nuestros resultados refuerzan el papel clave de GPX4 como nodo regulador de la homeostasis redox y la ferroptosis en la EPOC. La evidencia clínica de su descenso en fases estables de la enfermedad, junto con su asociación con marcadores funcionales y moleculares, subraya su relevancia potencial como biomarcador pronóstico. Sin embargo, su validación como herramienta clínica requiere estudios multicéntricos que integren mediciones tisulares, variables nutricionales y seguimiento evolutivo.

6.1.4. AIFM2

La flavoproteína mitocondrial AIFM2, también conocida como FSP1, ha emergido en los últimos años como un regulador clave en la defensa frente a la ferroptosis, actuando a través de un mecanismo independiente del sistema GPX4. En lugar de utilizar glutatión, FSP1 emplea NAD(P)H para reducir coenzima Q10 (ubiquinona) a su forma antioxidante activa, el ubiquinol. Este compuesto antioxidante interrumpe la propagación de radicales peroxilo en las membranas celulares, constituyendo así un escudo frente al daño oxidativo, especialmente en contextos donde el sistema glutatiónico se encuentra comprometido (Bersuker *et al.*, 2019; Doll *et al.*, 2019).

Esta vía paralela cobra especial importancia en tejidos con alto contenido lipídico o disfunción del eje GPX4, como sucede en la EPOC, donde el estrés oxidativo y la inflamación crónica alteran los sistemas antioxidantes clásicos. En modelos epiteliales pulmonares expuestos a humo de cigarrillo, la sobreexpresión de AIFM2 restaura la homeostasis redox, reduce la acumulación de peróxidos lipídicos y preserva la viabilidad celular, compensando así la disfunción de GPX4 (Z. Zhao *et al.*, 2023). Además, la inhibición simultánea de ambas moléculas elimina prácticamente toda resistencia

celular a la ferroptosis, lo que subraya su rol complementario como barrera antioxidante esencial (Bersuker *et al.*, 2019; X. Liu *et al.*, 2022).

En nuestra cohorte, no se observaron diferencias significativas en los niveles séricos de AIFM2 entre pacientes con EPOC estable y controles fumadores ($p = 0.181$). Esta ausencia de diferencias podría deberse a que los cambios en AIFM2 se producen a nivel tisular y no se reflejan de forma clara en la circulación periférica, especialmente durante fases clínicas estables de la enfermedad. Otra posibilidad es que su regulación esté condicionada por mecanismos postraduccionales, expresión epigenética o influencia de otros factores como la disponibilidad de CoQ10 o el estrés mitocondrial celular, que no se reflejan directamente en los niveles séricos totales (Su *et al.*, 2024).

Asimismo, AIFM2 no mostró asociaciones significativas con variables funcionales o pronósticas en nuestro análisis clínico. Sin embargo, se observó una correlación positiva con GPX4 ($r = 0.351$; $p < 0.001$), lo que sugiere una posible cooperación funcional entre ambas enzimas antioxidantes. Esta sinergia ha sido previamente descrita en modelos moleculares, donde la coexpresión de GPX4 y FSP1 potencia la resistencia celular frente a la ferroptosis (Bersuker *et al.*, 2019; Liu *et al.*, 2025).

Aunque AIFM2 ha sido ampliamente estudiado en el contexto oncológico, su papel en enfermedades inflamatorias crónicas como la EPOC está comenzando a consolidarse. Su perfil funcional sugiere que podría actuar como un amortiguador frente a la ferroptosis en escenarios de estrés redox persistente, contribuyendo a mantener la homeostasis epitelial en tejidos expuestos a insultos oxidativos repetidos como el humo del tabaco. Sin embargo, aún existen limitaciones metodológicas asociadas a la cuantificación sérica de FSP1, y es necesario confirmar que sus niveles circulantes reflejan con fidelidad su actividad tisular.

En conjunto, nuestros hallazgos respaldan la hipótesis de que AIFM2 forma parte de una red molecular protectora frente al estrés oxidativo en la EPOC, cuyo análisis conjunto con GPX4 y otros mediadores ferroptóticos podría aportar información más precisa sobre la vulnerabilidad epitelial en distintos estadios de la enfermedad. Futuras investigaciones deberían evaluar su expresión en muestras pulmonares y su evolución

en fases agudas, así como explorar estrategias farmacológicas dirigidas a potenciar su actividad como vía alternativa de defensa frente al daño oxidativo.

6.1.5. INTERACCIÓN FUNCIONAL ENTRE GPX4 Y sTfR1

La ferroptosis se desencadena por un desequilibrio entre los mecanismos de defensa antioxidante y la disponibilidad intracelular de hierro catalíticamente activo, que favorece la peroxidación lipídica. En este eje patogénico, GPX4 y sTfR1 representan dos nodos funcionales clave: el primero como freno enzimático del daño oxidativo, y el segundo como facilitador de la captación de hierro intracelular mediante transferrina. Su interacción podría determinar el umbral celular de vulnerabilidad frente a la ferroptosis, especialmente en tejidos con alta exposición a radicales libres como el epitelio pulmonar.

En modelos celulares y animales, se ha demostrado que la inhibición de GPX4 intensifica la toxicidad del hierro libre al permitir la acumulación de hidroperóxidos lipídicos, mientras que el aumento de la captación férrica mediada por TfR1 exacerba el estrés oxidativo mitocondrial, favoreciendo así la activación del proceso ferroptótico (Feng *et al.*, 2020; Y. Wang & Xia, 2023).

Nuestra cohorte de pacientes con EPOC estable presentó simultáneamente niveles significativamente más altos de sTfR1 y significativamente más bajos de GPX4 en comparación con los controles fumadores ($p < 0.001$ en ambos casos). Además, se observó una correlación inversa entre ambos biomarcadores ($r = -0.371$; $p < 0.001$), lo que sugiere un desacoplamiento funcional entre demanda férrica y defensa antioxidante. Esta disociación puede reflejar una alteración de la homeostasis epitelial pulmonar incluso en ausencia de inflamación sistémica evidente, dado que sTfR1 se considera un marcador menos influido por procesos inflamatorios que la ferritina.

La relevancia de este desequilibrio se intensifica al analizar la ratio sTfR1/GPX4, la cual mostró una mayor capacidad discriminativa para identificar pacientes con peor estado funcional (menor distancia en el test de marcha de 6 minutos) o mayor riesgo de exacerbaciones clínicas. Este cociente podría representar un índice compuesto de vulnerabilidad ferroptótica, al integrar simultáneamente el aporte de hierro (sTfR1) y la capacidad antioxidante intracelular (GPX4). Tal como han propuesto Wang & Xia, esta

interacción entre hierro catalíticamente activo y desregulación antioxidante configura un microambiente redox proclive a la activación de la ferroptosis (Y. Wang & Xia, 2023).

La elevación de sTfR1 en paralelo a la disminución de GPX4 sugiere un entorno molecular pro-ferroptótico, donde la presencia de hierro libre no contrarrestado favorece la generación de radicales lipídicos que culminan en muerte celular. Este fenómeno ha sido descrito también en otras enfermedades crónicas, como la nefropatía diabética, donde la ratio sTfR1/GPX4 se ha propuesto como marcador temprano de daño oxidativo (P. Zhao *et al.*, 2023) .

Una posible explicación funcional es que el aumento de sTfR1 en condiciones de estrés oxidativo actúe como señal compensatoria para mejorar la biodisponibilidad férrica, pero que en ausencia de una respuesta paralela del sistema GPX4, contribuya inadvertidamente a intensificar la peroxidación lipídica. Alternativamente, la disfunción de GPX4 podría generar una retroalimentación inflamatoria o mitocondrial que favorezca la expresión de sTfR1, como se ha descrito en modelos de cartílago y epitelio oxidativamente lesionado (Charlebois & Pantopoulos, 2023; M. Xu *et al.*, 2025).

Estos hallazgos abren la posibilidad de analizar perfiles combinados como herramientas más sensibles para la estratificación del riesgo clínico en la EPOC. En lugar de interpretar aisladamente los niveles séricos de GPX4 o sTfR1, su relación cuantitativa podría reflejar con mayor fidelidad el estado redox-férrico del epitelio pulmonar. Así, pacientes con baja GPX4 y alta sTfR1 podrían presentar un fenotipo especialmente susceptible a la progresión estructural de la enfermedad, la pérdida de capacidad funcional o el aumento en la tasa de exacerbaciones, hipótesis que deberá explorarse en futuros estudios y con análisis tisulares complementarios.

El hecho de que estas alteraciones se hayan detectado en suero periférico, y no en muestras pulmonares directas, subraya el potencial de contar con biomarcadores accesibles y no invasivos para monitorizar procesos celulares complejos del epitelio pulmonar. Si bien su utilidad clínica debe ser validada en cohortes independientes, la ratio sTfR1/GPX4 se perfila como una aproximación prometedora para la identificación de fenotipos de alto riesgo ferroptótico en la EPOC estable.

En conjunto, la correlación inversa entre GPX4 y sTfR1 refuerza la hipótesis de una vulnerabilidad epitelial mediada por la desregulación simultánea de ejes antioxidantos y férricos interdependientes. La ratio sTfR1/GPX4 emerge así como un candidato robusto a biomarcador sistémico de susceptibilidad ferroptótica, con posibles aplicaciones tanto en el estudio fisiopatológico de la enfermedad como en su estratificación clínica individualizada.

6.2. ASOCIACIÓN CON PARÁMETROS CLÍNICOS Y FUNCIONALES

Más allá de su participación en las rutas moleculares implicadas en la ferroptosis, los niveles séricos de determinados mediadores como sTfR1, GPX4 y su cociente sTfR1/GPX4 parecen estar relacionados con el fenotipo clínico de los pacientes con EPOC. En el contexto de nuestra cohorte, estos biomarcadores mostraron asociaciones significativas con variables funcionales y pronósticas, lo que sugiere que podrían reflejar alteraciones fisiológicas relevantes incluso en fases clínicas estables de la enfermedad.

6.2.1. ASOCIACIÓN CON PARÁMETROS ANTROPOMÉTRICOS Y COMPOSICIÓN CORPORAL

En los modelos de regresión multivariante, los niveles séricos elevados de GPX4 se asociaron positivamente con el índice de masa libre de grasa ($p = 0.040$), mientras que un cociente elevado sTfR1/GPX4 se asoció negativamente con este parámetro ($p = 0.004$). Estos hallazgos sugieren que el equilibrio redox-férrico podría tener un impacto directo en el mantenimiento de la masa muscular, probablemente reflejando un efecto del estrés oxidativo crónico sobre el tejido muscular.

La asociación positiva entre GPX4 y FFMI es coherente con estudios preclínicos que han demostrado que la sobreexpresión de esta enzima atenúa la atrofia muscular y mejora la función mitocondrial, al reducir la acumulación de lípidos peroxidables y el daño asociado (Czyżowska *et al.*, 2023; H. Xu *et al.*, 2023). Asimismo, la disfunción mitocondrial ha sido ampliamente reconocida como un mecanismo central en la fisiopatología de la caquexia (Amado *et al.*, 2022; Eshima *et al.*, 2023), lo que refuerza la implicación funcional de GPX4 en este contexto clínico.

6.2.2. ASOCIACIÓN CON LA CAPACIDAD DE EJERCICIO Y DESATURACIÓN DURANTE EL ESFUERZO

Los niveles séricos bajos de GPX4 y elevados de sTfR1 y del cociente sTfR1/GPX4 se asociaron de forma independiente con una menor distancia recorrida en el test de marcha de 6 minutos (<350 m), incluso tras ajustar por edad, sexo, comorbilidades y función pulmonar (GPX4 bajo: $p = 0.001$; sTfR1/GPX4 alto: $p = 0.002$). De igual modo, tanto sTfR1 como sTfR1/GPX4 mostraron asociaciones significativas con desaturación durante el esfuerzo (sTfR1 alto: $p = 0.003$; sTfR1/GPX4 alto: $p = 0.009$), mientras que GPX4 no fue predictor independiente en este contexto.

Esta diferencia podría explicarse por la función específica de cada biomarcador. GPX4 actúa como un antioxidante que protege frente al daño oxidativo a nivel celular, pero su efecto es más estructural y estable. Por otro lado, sTfR1 refleja una mayor demanda de hierro por parte de las células y puede estar influenciado por procesos crónicos asociados a reiteradas desaturaciones durante el esfuerzo, que podrían generar una acumulación intracelular de hierro libre y potenciar el estrés oxidativo a largo plazo. En consecuencia, los niveles elevados de sTfR1 podrían estar más vinculados a estas alteraciones sostenidas, mientras que GPX4 no captaría con la misma especificidad dichos procesos crónicos.

Estos hallazgos adquieren especial relevancia clínica, dado que el rendimiento en la prueba de marcha se correlaciona con la supervivencia en pacientes con EPOC, ya que refleja no solo el estado respiratorio, sino también la condición funcional y muscular del paciente (Cote *et al.*, 2008; Spruit *et al.*, 2010).

En este contexto, los resultados sugieren la existencia de un posible desacoplamiento entre la demanda fisiológica de oxígeno durante el esfuerzo y la capacidad del epitelio pulmonar para adaptarse de forma adecuada en condiciones de estrés oxidativo. En pacientes con mayor carga oxidativa, este desequilibrio podría traducirse en una menor eficiencia del intercambio gaseoso, manifestándose clínicamente como una desaturación precoz o disminución de la tolerancia durante el ejercicio.

6.2.3. ASOCIACIÓN CON EXACERBACIONES PREVIAS

El cociente sTfR1/GPX4 mostró una asociación significativa con haber presentado ≥ 1 exacerbación en el año previo ($p = 0.007$). Asimismo, los niveles elevados de GPX4 se asociaron negativamente con exacerbaciones previas ($p = 0.048$). Esta relación inversa refuerza el papel protector de GPX4 y sugiere que una menor capacidad antioxidante podría facilitar la aparición de episodios de descompensación clínica. Por su parte, un cociente alto sTfR1/GPX4 reflejaría un desequilibrio entre estrés oxidativo y mecanismos de defensa celular, que aumentaría la vulnerabilidad del paciente, incluso en ausencia de signos inflamatorios sistémicos evidentes.

6.2.4. ASOCIACIÓN CON DISNEA PERCIBIDA Y FUNCIÓN PULMONAR

A nivel sintomático, los niveles elevados de AIFM2 se asociaron con un mayor grado de disnea en la escala mMRC ($p = 0.046$). No obstante, esta asociación no se observó con parámetros objetivos de función pulmonar, como la FEV1, ni con la distancia recorrida en el test de marcha de 6 minutos. Esto sugiere que la activación de vías antioxidantes alternativas, como la vía FSP1/AIFM2, podría influir en la percepción subjetiva de disnea, sin traducirse necesariamente en mejoría funcional cuantificable. En otras palabras, AIFM2 podría estar relacionado más con el componente subjetivo del síntoma que al rendimiento fisiológico.

6.2.5. CAPACIDAD PRONÓSTICA DE EXACERBACIONES MODERADAS Y SEVERAS

Nuestros hallazgos muestran que los niveles elevados de sTfR1 y del cociente sTfR1/GPX4, así como los niveles bajos de GPX4, se asociaron de forma consistente con un mayor riesgo tanto de exacerbaciones moderadas como de hospitalizaciones. Este patrón sugiere que el desequilibrio entre mecanismos pro-oxidantes y antioxidantes podría desempeñar un papel clave en la vulnerabilidad del paciente con EPOC frente a eventos agudos.

Desde una perspectiva fisiopatológica, estos episodios podrían reflejar un estado inflamatorio crónico exacerbado, promovido por daño celular vinculado a ferroptosis, que comprometería la estabilidad clínica del paciente. La asociación más robusta del

cociente sTfR1/GPX4 en comparación con los biomarcadores individuales indica que este índice podría ofrecer una visión integrada del desbalance funcional entre el estrés oxidativo y la capacidad defensiva celular.

Aunque se ha descrito previamente la disminución de la actividad de GPX4 en modelos experimentales de lesión pulmonar (Amaral *et al.*, 2019; Jiang *et al.*, 2023; X. Yan *et al.*, 2025; W. Zhang *et al.*, 2024) y se ha demostrado que los niveles de sTfR1 pueden aumentar también en contextos de inflamación crónica persistente (Günther *et al.*, 2024), nuestro estudio es el primero en demostrar su impacto clínico conjunto en la predicción de exacerbaciones en pacientes con EPOC estable. En particular, la evaluación sistemática del cociente sTfR1/GPX4 representa una aportación novedosa. Este índice podría captar de manera más fiel la susceptibilidad epitelial a estímulos externos, al integrar simultáneamente la captación férrica y la defensa antioxidante. Hasta donde sabemos, no existen estudios clínicos previos que hayan explorado esta relación de forma prospectiva, lo que subraya la originalidad de estos hallazgos.

Por el contrario, otras moléculas como ACSL4 y AIFM2, a pesar de estar implicadas en rutas pro-ferroptóticas, no mostraron valor predictivo significativo en nuestros análisis. Esta discrepancia podría deberse a una menor relevancia de estas vías durante las fases estables de la enfermedad, o a limitaciones metodológicas para reflejar su actividad biológica a nivel sistémico.

6.2.5.1. Consideraciones clínicas y funcionales

A la luz de estos resultados, se refuerza el papel del desequilibrio en el eje redox-férrico como un determinante en la susceptibilidad a exacerbaciones. En particular, la combinación de una mayor carga férrica (sTfR1 elevado) con una capacidad antioxidante reducida (GPX4 bajo) podría reflejar un estado de vulnerabilidad epitelial latente, predisposto a respuestas inflamatorias desproporcionadas frente a estímulos ambientales o infecciosos.

Este perfil cobra relevancia desde el punto de vista clínico, ya que las exacerbaciones son responsables de gran parte del deterioro funcional, las hospitalizaciones y la mortalidad asociadas a la EPOC, además de generar una carga económica considerable para los sistemas de salud. En este contexto, disponer de biomarcadores séricos capaces

de identificar precozmente a pacientes con mayor riesgo facilitaría la estratificación pronóstica, la personalización terapéutica y un seguimiento más intensivo de los subgrupos vulnerables.

Desde una perspectiva funcional, este desequilibrio podría comprometer la capacidad del epitelio pulmonar para mitigar el daño oxidativo durante fases estables, facilitando la transición hacia eventos agudos. Así, el cociente sTfR1/GPX4 emerge como un indicador integrado del riesgo, al combinar dimensiones clave del metabolismo férrico y del sistema antioxidante.

En definitiva, estos hallazgos consolidan el valor del eje sTfR1–GPX4 como un posible biomarcador de vulnerabilidad clínica, aplicable tanto a exacerbaciones moderadas como a aquellas de mayor gravedad.

6.3. IMPLICACIONES FISIOPATOLÓGICAS Y METABÓLICAS

Desde un punto de vista fisiopatológico, los hallazgos de este estudio refuerzan la noción de que la ferroptosis no es solo un fenómeno *in vitro* o experimental, sino que podría estar activamente involucrada en la progresión de la EPOC humana, incluso en fases clínicas estables. El aumento de sTfR1 y la disminución de GPX4 en circulación podrían reflejar un estado de estrés oxidativo crónico no compensado, especialmente en tejidos diana de la enfermedad como las células epiteliales respiratorias, macrófagos alveolares y el endotelio pulmonar.

Este entorno pro-ferroptótico también podría contribuir a alteraciones del metabolismo muscular. Se observó una correlación negativa entre sTfR1 y el índice de masa libre de grasa, lo que sugiere que una mayor señalización pro-ferroptótica podría asociarse con pérdida muscular o sarcopenia. Este fenómeno, junto con la reducción del rendimiento físico y la mayor desaturación durante el esfuerzo, refuerza la idea de un fenotipo clínico con fragilidad funcional y metabólica mediado por ferroptosis.

6.3.1. COCIENTE sTfR1/GPX4 COMO ÍNDICE COMPUUESTO

Desde esta perspectiva, el cociente sTfR1/GPX4, que combina una señal pro-ferroptótica (sTfR1) y una anti-ferroptótica (GPX4), sugirió un valor pronóstico superior al de los marcadores individuales, tanto para capacidad de ejercicio como para riesgo de padecer exacerbaciones. Esta métrica podría representar un índice de vulnerabilidad biológica en pacientes con EPOC estable y ser útil como herramienta complementaria en la práctica clínica.

6.3.2. IMPLICACIÓN LIMITADA DE ACSL4 Y AIFM2

A pesar del interés teórico de ACSL4 y AIFM2 como reguladores positivo y negativo de la ferroptosis, respectivamente, en nuestro estudio no se observaron diferencias significativas en sus niveles séricos entre grupos, ni se identificaron asociaciones relevantes con variables clínicas o funcionales. En los modelos multivariantes, ninguno se comportó como predictor independiente de capacidad funcional ni de riesgo de exacerbaciones. Aunque AIFM2 mostró una débil asociación con mayor disnea percibida, su valor como biomarcador sistémico en fases estables de la EPOC parece limitado.

Diversas hipótesis podrían explicar esta ausencia de asociación: baja sensibilidad de los kits ELISA, expresión predominantemente tisular más que sistémica, o una implicación funcional restringida a fases agudas o mecanismos locales. En conjunto, estos hallazgos cuestionan su utilidad clínica en este contexto, al menos en la presente cohorte, y sugieren que futuras investigaciones deberían considerar la medición simultánea en tejido pulmonar y suero para esclarecer su papel fisiopatológico.

6.4. LIMITACIONES Y FORTALEZAS DEL ESTUDIO

Este estudio presenta varias limitaciones que deben tenerse en cuenta a la hora de interpretar sus resultados. En primer lugar, se trata de un estudio unicéntrico, lo que puede limitar la generalización de los hallazgos a otras poblaciones. Serán necesarios estudios multicéntricos con mayor diversidad geográfica, sociodemográfica y clínica para validar estos resultados y determinar su aplicabilidad en diferentes contextos asistenciales. Además, aunque se aplicaron criterios de exclusión rigurosos, incluyendo

la presencia de exacerbación activa, sepsis, inflamación sistémica severa, insuficiencia renal, trastornos relacionados con el hierro o consumo excesivo de alcohol, no se excluyeron de forma sistemática pacientes con enfermedades cardiovasculares subclínicas o inflamación de bajo grado (por ejemplo, aterosclerosis, hipertensión o cardiopatía isquémica), cuya influencia residual sobre los niveles de estrés oxidativo y biomarcadores de ferroptosis no puede descartarse completamente.

Por otro lado, la naturaleza observacional del estudio impide establecer relaciones causales entre los niveles séricos de los biomarcadores analizados (sTfR1, GPX4 y su cociente) y los desenlaces clínicos. Los resultados obtenidos reflejan asociaciones estadísticas robustas, pero no permiten concluir si estos mediadores participan directamente en los mecanismos fisiopatológicos de la EPOC o si actúan como indicadores indirectos de procesos subyacentes más complejos.

Asimismo, el estudio no incluyó un seguimiento longitudinal con medidas repetidas de los biomarcadores a lo largo del tiempo, lo que habría permitido explorar dinámicas individuales y su posible utilidad como marcadores de progresión. La evolución temporal de los niveles de sTfR1, GPX4 o del cociente sTfR1/GPX4 podría aportar información valiosa sobre su comportamiento ante cambios clínicos, intervenciones terapéuticas o aparición de eventos agudos.

Finalmente, aunque se aplicaron técnicas analíticas validadas (ELISA comercial) para la cuantificación de los mediadores séricos, no puede descartarse cierta variabilidad analítica o limitaciones de sensibilidad, especialmente en el caso de AIFM2 y ACSL4, cuyos niveles no mostraron asociaciones significativas con las variables clínicas. Futuras investigaciones podrían beneficiarse de estrategias más sensibles, así como de análisis simultáneos en tejido pulmonar y suero para determinar con mayor precisión el papel real de estas vías en la fisiopatología de la EPOC.

A pesar de estas limitaciones, una de las principales fortalezas del presente estudio reside en su diseño prospectivo, específicamente orientado a explorar la utilidad clínica de medir biomarcadores asociados a la ferroptosis en una cohorte bien caracterizada de pacientes con EPOC estable. La utilización de muestras séricas representa además una ventaja operativa frente a otros estudios previos centrados en tejidos epiteliales o

muestras obtenidas mediante técnicas invasivas, lo que incrementa la aplicabilidad clínica de los hallazgos y su potencial incorporación en la práctica asistencial. La coherencia interna de los resultados y el enfoque integrador de biomarcadores séricos con seguimiento longitudinal refuerzan la solidez metodológica del trabajo. En conjunto, este estudio aporta nuevas evidencias sobre la implicación del eje redox-férrico en la progresión clínica de la EPOC y sienta las bases para su validación futura como herramienta pronóstica y diana terapéutica potencial.

7. CONCLUSIONES

1. Los pacientes con EPOC estable presentan un perfil sérico alterado de biomarcadores relacionados con la ferroptosis, con niveles significativamente más elevados de sTfR1 y más bajos de GPX4 en comparación con fumadores sin EPOC, lo que sugiere una disfunción en el equilibrio redox-férreo. No se observaron diferencias significativas en los niveles séricos de ACSL4 ni AIFM2 entre pacientes con EPOC y controles, lo que limita su utilidad como biomarcadores sistémicos en fases clínicas estables.
2. sTfR1 y GPX4 mostraron asociaciones significativas con el índice de masa libre de grasa, con una relación inversa para sTfR1 y positiva para GPX4, lo que apunta a un posible papel de estos biomarcadores en el metabolismo muscular de los pacientes con EPOC. En cambio, ACSL4 y AIFM2 no evidenciaron asociaciones clínicas relevantes.
3. Niveles bajos de GPX4, altos de sTfR1 y un cociente elevado sTfR1/GPX4 se asociaron de forma independiente con un menor rendimiento en el test de marcha de 6 minutos (<350 m) y con una mayor probabilidad de desaturación durante el esfuerzo, reflejando su vinculación con una peor capacidad de ejercicio.
4. En el seguimiento a 12 meses, los niveles bajos de GPX4, elevados de sTfR1 y un cociente elevado sTfR1/GPX4 se comportaron como factores pronósticos independientes tanto de exacerbaciones moderadas como de exacerbaciones severas (hospitalizaciones).
5. Entre los biomarcadores evaluados, el cociente sTfR1/GPX4 mostró el mejor rendimiento pronóstico para predecir alteraciones funcionales y eventos clínicos, lo que lo posiciona como un posible índice compuesto de vulnerabilidad biológica en la EPOC estable, con potencial utilidad para la estratificación y el abordaje personalizado.

BIBLIOGRAFÍA

- Abbasi, M. A., Nazir, A., Qureshi, S. A., Haleem, N., Khattak, N., Rashid, M. A., & Iltaf, S. (2024). Iron Deficiency Without Anaemia in Copd Patients: Assessing Exercise Capacity and Exacerbation Frequency. *Journal of Ayub Medical College*, 36(1), 113–118. <https://doi.org/10.55519/JAMC-01-12835>
- Adeloye, D., Song, P., Zhu, Y., Campbell, H., Sheikh, A., & Rudan, I. (2022). Global, regional, and national prevalence of, and risk factors for, chronic obstructive pulmonary disease (COPD) in 2019: a systematic review and modelling analysis. *The Lancet Respiratory Medicine*, 10(5), 447–458. [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(21\)00511-7](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(21)00511-7)
- Agusti, A., Ambrosino, N., Blackstock, F., Bourbeau, J., Casaburi, R., Celli, B., Criner, G. J., Crouch, R., Negro, R. W. D., Dreher, M., Garvey, C., Gerardi, D. A., Goldstein, R., Hanania, N. A., Holland, A. E., Kaur, A., Lareau, S., Lindenauer, P. K., Mannino, D., ... ZuWallack, R. (2023). COPD: Providing the right treatment for the right patient at the right time. *Respiratory Medicine*, 207, 107041. <https://doi.org/10.1016/j.rmed.2022.107041>
- Alcolea Batres, S., Villamor León, J., & Álvarez-Sala, R. (2007). EPOC y estado nutricional. *Archivos de Bronconeumología*, 43(5), 283–288. <https://doi.org/10.1157/13101956>
- Alfahad, A. J., Alzaydi, M. M., Aldossary, A. M., Alshehri, A. A., Almughem, F. A., Zaidan, N. M., & Tawfiq, E. A. (2021). Current views in chronic obstructive pulmonary disease pathogenesis and management. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 29(12), 1361–1373. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2021.10.008>
- Almagro, P., Soler-Cataluña, J. J., Huerta, A., González-Segura, D., & Cosío, B. G. (2024). Impact of comorbidities in COPD clinical control criteria. The CLAVE study. *BMC Pulmonary Medicine*, 24(1), 6. <https://doi.org/10.1186/s12890-023-02758-0>
- Alotaibi, N. M., Chen, V., Hollander, Z., Hague, C. J., Murphy, D. T., Leipsic, J. A., DeMarco, M. L., FitzGerald, J. M., McManus, B. M., Ng, R. T., & Sin, D. D. (2018). Phenotyping COPD exacerbations using imaging and blood-based biomarkers. *International Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease*, Volume 13, 217–229. <https://doi.org/10.2147/COPD.S152484>
- Amado, C. A., Ghadban, C., Manrique, A., Osorio, J. S., Ruiz de Infante, M., Perea, R., Gómez-Ramos, L., García-Martín, S., Huidobro, L., Zuazaga, J., Druet, P., Argos, P., Poo, C., Muruzábal, M. J., España, H., & Andretta, G. (2024). Monocyte distribution width (MDW)

and DECAF: two simple tools to determine the prognosis of severe COPD exacerbation. *Internal and Emergency Medicine*, 19(6), 1567–1575. <https://doi.org/10.1007/s11739-024-03632-5>

Amado, C. A., Martín-Audera, P., Agüero, J., Ferrer-Pargada, D., Josa Laorden, B., Boucle, D., Berja, A., Lavín, B. A., Guerra, A. R., Ghadban, C., Muñoz, P., & García-Unzueta, M. (2023). Alterations in circulating mitochondrial signals at hospital admission for COPD exacerbation. *Chronic Respiratory Disease*, 20. <https://doi.org/10.1177/14799731231220058>

Amado, C. A., Martín-Audera, P., Agüero, J., Lavín, B. A., Guerra, A. R., Boucle, D., Ferrer-Pargada, D., Berja, A., Martín, F., Casanova, C., & García-Unzueta, M. (2023). Circulating levels of mitochondrial oxidative stress-related peptides MOTS-c and Romo1 in stable COPD: A cross-sectional study. *Frontiers in Medicine*, 10. <https://doi.org/10.3389/fmed.2023.1100211>

Amado, C. A., Martín-Audera, P., Agüero, J., Lavín, B. A., Guerra, A. R., Muñoz, P., Berja, A., Casanova, C., & García-Unzueta, M. (2022). Associations between serum mitokine levels and outcomes in stable COPD: an observational prospective study. *Scientific Reports*, 12(1), 17315. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-21757-5>

Amaral, E. P., Costa, D. L., Namasivayam, S., Riteau, N., Kamenyeva, O., Mittereder, L., Mayer-Barber, K. D., Andrade, B. B., & Sher, A. (2019). A major role for ferroptosis in *Mycobacterium tuberculosis*-induced cell death and tissue necrosis. *Journal of Experimental Medicine*, 216(3), 556–570. <https://doi.org/10.1084/jem.20181776>

Anandhan, A., Dodson, M., Shakya, A., Chen, J., Liu, P., Wei, Y., Tan, H., Wang, Q., Jiang, Z., Yang, K., Garcia, J. G., Chambers, S. K., Chapman, E., Ooi, A., Yang-Hartwich, Y., Stockwell, B. R., & Zhang, D. D. (2023). NRF2 controls iron homeostasis and ferroptosis through HERC2 and VAMP8. *Science Advances*, 9(5). <https://doi.org/10.1126/sciadv.ade9585>

Askri, D., Cunin, V., Ouni, S., Béal, D., Rachidi, W., Sakly, M., Amara, S., Lehmann, S. G., & Sèvre, M. (2019). Effects of Iron Oxide Nanoparticles (γ -Fe₂O₃) on Liver, Lung and Brain Proteomes following Sub-Acute Intranasal Exposure: A New Toxicological Assessment in Rat Model Using iTRAQ-Based Quantitative Proteomics. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(20), 5186. <https://doi.org/10.3390/ijms20205186>

Axelsson, M., Backman, H., Nwaru, B. I., Stridsman, C., Vanfleteren, L., Hedman, L., Piirilä, P., Jalasto, J., Langhammer, A., Kankaanranta, H., Rådinger, M., Ekerljung, L., Rönmark, E., &

- Lindberg, A. (2023). Underdiagnosis and misclassification of COPD in Sweden – A Nordic Epilung study. *Respiratory Medicine*, 217, 107347.
<https://doi.org/10.1016/j.rmed.2023.107347>
- Ayala, A., Muñoz, M. F., & Argüelles, S. (2014). Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2014, 1–31. <https://doi.org/10.1155/2014/360438>
- Babaei-Abraki, S., Karamali, F., & Nasr-Esfahani, M. H. (2023). Ferroptosis: The functions of Nrf2 in human embryonic stem cells. *Cellular Signalling*, 106(February).
<https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2023.110654>
- Bai, J., Chen, X., Liu, S., Yu, L., & Xu, J. (2017). Smoking cessation affects the natural history of COPD. *International Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease*, Volume 12, 3323–3328. <https://doi.org/10.2147/COPD.S150243>
- Bailie, G. R., Schuler, C., Leggett, R. E., Li, H., Li, H.-D., Patadia, H., & Levin, R. (2013). Oxidative effect of several intravenous iron complexes in the rat. *BioMetals*, 26(3), 473–478.
<https://doi.org/10.1007/s10534-013-9632-4>
- Barberan-Garcia, A., Rodríguez, D. A., Blanco, I., Gea, J., Torralba, Y., Arbillaga-Etxarri, A., Barberà, J. A., Vilarõ, J., Roca, J., & Orozco-Levi, M. (2015). Non-anaemic iron deficiency impairs response to pulmonary rehabilitation in COPD. *Respirology*, 20(7), 1089–1095.
<https://doi.org/10.1111/resp.12591>
- Barreiro, E., Bustamante, V., Cejudo, P., Gáldiz, J. B., Gea, J., de Lucas, P., Martínez-Llorens, J., Ortega, F., Puente-Maestu, L., Roca, J., & Rodríguez González-Moro, J. M. (2015). Normativa SEPAR sobre disfunción muscular de los pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica. *Archivos de Bronconeumología*, 51(8), 384–395.
<https://doi.org/10.1016/j.arbres.2015.04.011>
- Beerenhout, C., Bekers, O., Kooman, J. P., van der Sande, F. M., & Leunissen, K. M. L. (2002). A Comparison between the Soluble Transferrin Receptor, Transferrin Saturation and Serum Ferritin as Markers of Iron State in Hemodialysis Patients. *Nephron*, 92(1), 32–35.
<https://doi.org/10.1159/000064468>
- Beguin, Y. (2003). Soluble transferrin receptor for the evaluation of erythropoiesis and iron status. *Clinica Chimica Acta*, 329(1–2), 9–22. [https://doi.org/10.1016/S0009-8981\(03\)00005-6](https://doi.org/10.1016/S0009-8981(03)00005-6)

Bekkati-Berkani, R., Wilkinson, T., Buchy, P., Dos Santos, G., Stefanidis, D., Devaster, J.-M., & Meyer, N. (2017). Seasonal influenza vaccination in patients with COPD: a systematic literature review. *BMC Pulmonary Medicine*, 17(1), 79. <https://doi.org/10.1186/s12890-017-0420-8>

Berndt, C., Alborzinia, H., Amen, V. S., Ayton, S., Baraye, U., Bartelt, A., Bayir, H., Bebber, C. M., Birsoy, K., Böttcher, J. P., Brabertz, S., Brabertz, T., Brown, A. R., Brüne, B., Bulli, G., Bruneau, A., Chen, Q., DeNicola, G. M., Dick, T. P., ... Conrad, M. (2024). Ferroptosis in health and disease. *Redox Biology*, 75, 103211. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2024.103211>

Bersuker, K., Hendricks, J. M., Li, Z., Magtanong, L., Ford, B., Tang, P. H., Roberts, M. A., Tong, B., Maimone, T. J., Zoncu, R., Bassik, M. C., Nomura, D. K., Dixon, S. J., & Olzmann, J. A. (2019). The CoQ oxidoreductase FSP1 acts parallel to GPX4 to inhibit ferroptosis. *Nature*, 575(7784), 688–692. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1705-2>

Bhatt, S. P., Rabe, K. F., Hanania, N. A., Vogelmeier, C. F., Bafadhel, M., Christenson, S. A., Papi, A., Singh, D., Laws, E., Patel, N., Yancopoulos, G. D., Akinlade, B., Maloney, J., Lu, X., Bauer, D., Bansal, A., Abdulai, R. M., & Robinson, L. B. (2024). Dupilumab for COPD with Blood Eosinophil Evidence of Type 2 Inflammation. *New England Journal of Medicine*, 390(24), 2274–2283. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2401304>

Bhatta, L., Leivseth, L., Mai, X.-M., Henriksen, A. H., Carslake, D., Chen, Y., Martinez-Camblor, P., Langhammer, A., & Brumpton, B. M. (2021). Spirometric Classifications of Chronic Obstructive Pulmonary Disease Severity as Predictive Markers for Clinical Outcomes: The HUNT Study. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 203(8), 1033–1037. <https://doi.org/10.1164/rccm.202011-4174LE>

Borghi-Silva, A., Camargo, P. F., Caruso, F. C. R., da Luz Goulart, C., Trimer, R., Darlan Santos-Araújo, A., Dourado, I. M., & da Silva, A. L. G. (2025). Current perspectives on the rehabilitation of COPD patients with comorbidities. *Expert Review of Respiratory Medicine*. <https://doi.org/10.1080/17476348.2025.2452441>

Boschetto, P., Quintavalle, S., Miotto, D., Lo Cascio, N., Zeni, E., & Mapp, C. E. (2006). Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) and occupational exposures. *Journal of Occupational Medicine and Toxicology*, 1(1), 1–6. <https://doi.org/10.1186/1745-6673-1-11>

Bouchaoui, H., Mahoney-Sanchez, L., Garçon, G., Berdeaux, O., Alleman, L. Y., Devos, D., Duce, 124

J. A., & Devedjian, J.-C. (2023). ACSL4 and the lipoxygenases 15/15B are pivotal for ferroptosis induced by iron and PUFA dyshomeostasis in dopaminergic neurons. *Free Radical Biology and Medicine*, 195, 145–157.
<https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2022.12.086>

Boutou, A. K., Polkey, M. I., & Hopkinson, N. S. (2015). Non-anaemic iron deficiency in COPD: A potential therapeutic target? *Respirology*, 20(7), 1004–1005.
<https://doi.org/10.1111/resp.12616>

Buist, A. S., McBurnie, M. A., Vollmer, W. M., Gillespie, S., Burney, P., Mannino, D. M., Menezes, A. M., Sullivan, S. D., Lee, T. A., Weiss, K. B., Jensen, R. L., Marks, G. B., Gulsvik, A., & Nizankowska-Mogilnicka, E. (2007). International variation in the prevalence of COPD (The BOLD Study): a population-based prevalence study. *The Lancet*, 370(9589), 741–750. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(07\)61377-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(07)61377-4)

Cabrera López, C., Casanova Macario, C., Marín Trigo, J. M., De-Torres, J. P., Torres, R. S., González, J. M., Polverino, F., Divo, M., Pinto Plata, V., Zulueta, J., Callejas, F. J., & Celli, B. (2019). Validación pronóstica según los criterios de la GesEPOC 2017. *Archivos de Bronconeumología*, 55(8), 409–413. <https://doi.org/10.1016/j.arbres.2018.12.002>

Calle Rubio, M., Rodríguez Hermosa, J. L., Miravitles, M., & López-Campos, J. L. (2022). Determinants in the Underdiagnosis of COPD in Spain—CONOCEPOC Study. *Journal of Clinical Medicine*, 11(9), 2670. <https://doi.org/10.3390/jcm11092670>

Cao, J. Y., & Dixon, S. J. (2016). Mechanisms of ferroptosis. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 73(11–12), 2195–2209. <https://doi.org/10.1007/s0018-016-2194-1>

Capistrano, S., Van Reyk, D., Chen, H., & Oliver, B. (2017). Evidence of Biomass Smoke Exposure as a Causative Factor for the Development of COPD. *Toxics*, 5(4), 36. <https://doi.org/10.3390/toxics5040036>

Carrión Valero, F., Paulos Dos Santos, S., & Celli, B. R. (2018). Tabaquismo en pacientes con EPOC, ¿un nuevo fenotipo clínico? *Archivos de Bronconeumología*, 54(5), 249–250. <https://doi.org/10.1016/j.arbres.2017.10.021>

Casanova, C., Cote, C., Marin, J. M., Pinto-Plata, V., de Torres, J. P., Aguirre-Jáime, A., Vassaux, C., & Celli, B. R. (2008). Distance and Oxygen Desaturation During the 6-min Walk Test as Predictors of Long-term Mortality in Patients With COPD. *Chest*, 134(4), 746–752. <https://doi.org/10.1378/chest.08-0520>

- Cazzola, M., & Novelli, G. (2010). Biomarkers in COPD. *Pulmonary Pharmacology & Therapeutics*, 23(6), 493–500. <https://doi.org/10.1016/j.pupt.2010.05.001>
- Cederholm, T., Bosaeus, I., Barazzoni, R., Bauer, J., Van Gossum, A., Klek, S., Muscaritoli, M., Nyulasi, I., Ockenga, J., Schneider, S. M., de van der Schueren, M. A. E., & Singer, P. (2015). Diagnostic criteria for malnutrition – An ESPEN Consensus Statement. *Clinical Nutrition*, 34(3), 335–340. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2015.03.001>
- Celli, B. R., & Barnes, P. J. (2007). Exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *European Respiratory Journal*, 29(6), 1224–1238.
<https://doi.org/10.1183/09031936.00109906>
- Celli, Cote, C. G., Marin, J. M., Casanova, C., Montes de Oca, M., Mendez, R. A., Pinto Plata, V., & Cabral, H. J. (2004). The Body-Mass Index, Airflow Obstruction, Dyspnea, and Exercise Capacity Index in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *New England Journal of Medicine*, 350(10), 1005–1012. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa021322>
- Chae, G., Ko, E. J., Lee, S. W., Kim, H. J., Kwak, S. G., Park, D., & Ra, S. W. (2022). Stronger correlation of peak oxygen uptake with distance of incremental shuttle walk test than 6-min walk test in patients with COPD: a systematic review and meta-analysis. *BMC Pulmonary Medicine*, 22(1), 102. <https://doi.org/10.1186/s12890-022-01897-0>
- Charlebois, E., & Pantopoulos, K. (2023). Nutritional Aspects of Iron in Health and Disease. *Nutrients*, 15(11). <https://doi.org/10.3390/nu15112441>
- Charlson, M. E., Pompei, P., Ales, K. L., & MacKenzie, C. R. (1987). A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: Development and validation. *Journal of Chronic Diseases*, 40(5), 373–383. [https://doi.org/10.1016/0021-9681\(87\)90171-8](https://doi.org/10.1016/0021-9681(87)90171-8)
- Chen, X., Yu, C., Kang, R., & Tang, D. (2020). Iron Metabolism in Ferroptosis. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.590226>
- Chen, Y.-W. R., Leung, J. M., & Sin, D. D. (2016). A Systematic Review of Diagnostic Biomarkers of COPD Exacerbation. *PLOS ONE*, 11(7), e0158843.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0158843>
- Cheng, S. L., Lin, C.-H., Wang, C.-C., Chan, M.-C., Hsu, J.-Y., Hang, L.-W., Perng, D.-W., Yu, C.-J., & Wang, H.-C. (2019). Comparison between COPD Assessment Test (CAT) and modified Medical Research Council (mMRC) dyspnea scores for evaluation of clinical symptoms, comorbidities and medical resources utilization in COPD patients. *Journal of the*

Formosan Medical Association, 118(1), 429–435.

<https://doi.org/10.1016/j.jfma.2018.06.018>

Cheng, W., Zhou, A., Zeng, Y., Lin, L., Song, Q., Liu, C., Zhou, Z., Peng, Y., Yang, M., Yang, L., Chen, Y., Cai, S., & Chen, P. (2023). Prediction of Hospitalization and Mortality in Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease with the New Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease 2023 Group Classification: A Prospective Cohort and a Retrospective Analysis. *International Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease*, Volume 18, 2341–2352. <https://doi.org/10.2147/COPD.S429104>

Conrad, M., & Proneth, B. (2020). Selenium: Tracing Another Essential Element of Ferroptotic Cell Death. *Cell Chemical Biology*, 27(4), 409–419.
<https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2020.03.012>

Cook, J. D., Lipschitz, D. A., Miles, L. E., & Finch, C. A. (1974). Serum ferritin as a measure of iron stores in normal subjects. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 27(7), 681–687.
<https://doi.org/10.1093/ajcn/27.7.681>

Cote, C. G., Casanova, C., Marín, J. M., Lopez, M. V., Pinto-Plata, V., de Oca, M. M., Dordelly, L. J., Nekach, H., & Celli, B. R. (2008). Validation and comparison of reference equations for the 6-min walk distance test. *European Respiratory Journal*, 31(3), 571–578.
<https://doi.org/10.1183/09031936.00104507>

Criner, G. J., Agusti, A., Borghaei, H., Friedberg, J., Martinez, F. J., Miyamoto, C., Vogelmeier, C. F., & Celli, B. R. (2022). Chronic Obstructive Pulmonary Disease and Lung Cancer: A Review for Clinicians. *Chronic Obstructive Pulmonary Diseases: Journal of the COPD Foundation*, 454–476. <https://doi.org/10.15326/jcopdf.2022.0296>

Czyżowska, A., Brown, J., Xu, H., Sataranatarajan, K., Kinter, M., Tyrell, V. J., O'Donnell, V. B., & Van Remmen, H. (2023). Elevated phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase (GPX4) expression modulates oxylipin formation and inhibits age-related skeletal muscle atrophy and weakness. *Redox Biology*, 64, 102761.
<https://doi.org/10.1016/j.redox.2023.102761>

Dar, H. H., Tyurina, Y. Y., Mikulska-Ruminska, K., Shrivastava, I., Ting, H. C., Tyurin, V. A., Krieger, J., Croix, C. M. S., Watkins, S., Bayir, E., Mao, G., Armbruster, C. R., Kapralov, A., Wang, H., Parsek, M. R., Anthonymuthu, T. S., Ogunsola, A. F., Flitter, B. A., Freedman, C. J., ... Kagan, V. E. (2018). *Pseudomonas aeruginosa* utilizes host polyunsaturated phosphatidylethanolamines to trigger theft-ferroptosis in bronchial epithelium. *Journal of*

Clinical Investigation, 128(10), 4639–4653. <https://doi.org/10.1172/JCI99490>

de Oca, M. M., Halbert, R. J., Lopez, M. V., Perez-Padilla, R., Tálamo, C., Moreno, D., Muiño, A., Jardim, J. R. B., Valdivia, G., Pertuzé, J., & Menezes, A. M. B. (2012). The chronic bronchitis phenotype in subjects with and without COPD: the PLATINO study. *European Respiratory Journal*, 40(1), 28–36. <https://doi.org/10.1183/09031936.00141611>

Delmas, M.-C., Bénézet, L., Ribet, C., Iwatsubo, Y., Zins, M., Nadif, R., Roche, N., & Leynaert, B. (2021). Underdiagnosis of obstructive lung disease: findings from the French CONANCES cohort. *BMC Pulmonary Medicine*, 21(1), 319. <https://doi.org/10.1186/s12890-021-01688-z>

Divo, M., & Celli, B. R. (2020). Multimorbidity in Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Clinics in Chest Medicine*, 41(3), 405–419. <https://doi.org/10.1016/j.ccm.2020.06.002>

Dixon, S. J., & Olzmann, J. A. (2024). The cell biology of ferroptosis. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 25(6), 424–442. <https://doi.org/10.1038/s41580-024-00703-5>

Doll, S., Freitas, F. P., Shah, R., Aldrovandi, M., da Silva, M. C., Ingold, I., Grocin, A. G., Xavier da Silva, T. N., Panzilius, E., Scheel, C. H., Mourão, A., Buday, K., Sato, M., Wanninger, J., Vignane, T., Mohana, V., Rehberg, M., Flatley, A., Schepers, A., ... Conrad, M. (2019). FSP1 is a glutathione-independent ferroptosis suppressor. *Nature*, 575(7784), 693–698. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1707-0>

Doll, S., Proneth, B., Tyurina, Y. Y., Panzilius, E., Kobayashi, S., Ingold, I., Irmler, M., Beckers, J., Aichler, M., Walch, A., Prokisch, H., Trümbach, D., Mao, G., Qu, F., Bayir, H., Füllekrug, J., Scheel, C. H., Wurst, W., Schick, J. A., ... Conrad, M. (2017). ACSL4 dictates ferroptosis sensitivity by shaping cellular lipid composition. *Nature Chemical Biology*, 13(1), 91–98. <https://doi.org/10.1038/nchembio.2239>

Doumas, B. T., Biggs, H. G., Arends, R. L., & Pinto, P. V. C. (1972). *Determination of Serum Albumin* (pp. 175–188). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-609107-6.50022-2>

Drabkin, D. L. (1946). Spectrophotometric studies; the crystallographic and optical properties of the hemoglobin of man in comparison with those of other species. *The Journal of Biological Chemistry*, 164(2), 703–723. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21001166>

Eshima, H., Shahtout, J. L., Siripoksup, P., Pearson, M. J., Mahmassani, Z. S., Ferrara, P. J., Lyons, A. W., Maschek, J. A., Peterlin, A. D., Verkerke, A. R., Johnson, J. M., Salcedo, A.,

- Petrocelli, J. J., Miranda, E. R., Anderson, E. J., Boudina, S., Ran, Q., Cox, J. E., Drummond, M. J., & Funai, K. (2023). Lipid hydroperoxides promote sarcopenia through carbonyl stress. *eLife*, 12. <https://doi.org/10.7554/eLife.85289>
- Fazleen, A., & Wilkinson, T. (2020). Early COPD: current evidence for diagnosis and management. *Therapeutic Advances in Respiratory Disease*, 14, 1–13. <https://doi.org/https://doi.org/10.1177/1753466620942128>
- Feng, H., Schorpp, K., Jin, J., Yozwiak, C. E., Hoffstrom, B. G., Decker, A. M., Rajbhandari, P., Stokes, M. E., Bender, H. G., Csuka, J. M., Upadhyayula, P. S., Canoll, P., Uchida, K., Soni, R. K., Hadian, K., & Stockwell, B. R. (2020). Transferrin Receptor Is a Specific Ferroptosis Marker. *Cell Reports*, 30(10), 3411-3423.e7. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.02.049>
- Fermont, J. M., Masconi, K. L., Jensen, M. T., Ferrari, R., Di Lorenzo, V. A. P., Marott, J. M., Schuetz, P., Watz, H., Waschki, B., Müllerova, H., Polkey, M. I., Wilkinson, I. B., & Wood, A. M. (2019). Biomarkers and clinical outcomes in COPD: a systematic review and meta-analysis. *Thorax*, 74(5), 439–446. <https://doi.org/10.1136/thoraxjnl-2018-211855>
- Finch, C. A., & Huebers, H. (1982). Perspectives in iron metabolism. *The New England Journal of Medicine*, 306(25), 1520–1528. <https://doi.org/10.1056/NEJM198206243062504>
- Fish, W. W. (1988). Rapid colorimetric micromethod for the quantitation of complexed iron in biological samples. *Methods in Enzymology*, 158, 357–364. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(88\)58067-9](https://doi.org/10.1016/0076-6879(88)58067-9)
- Fletcher, C. M. (1952). The clinical diagnosis of pulmonary emphysema; an experimental study. *Proceedings of the Royal Society of Medicine*, 45(9), 577–584. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13003946>
- Fossati, P., Prencipe, L., & Berti, G. (1980). Use of 3,5-dichloro-2-hydroxybenzenesulfonic acid/4-aminophenazone chromogenic system in direct enzymic assay of uric acid in serum and urine. *Clinical Chemistry*, 26(2), 227–231. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7353268>
- Fossati, P., Prencipe, L., & Berti, G. (1983). Enzymic creatinine assay: a new colorimetric method based on hydrogen peroxide measurement. *Clinical Chemistry*, 29(8), 1494–1496. <https://doi.org/10.1093/clinchem/29.8.1494>
- Gao, X., Gào, X., Zhang, Y., Breitling, L. P., Schöttker, B., & Brenner, H. (2017). Associations of self-reported smoking, cotinine levels and epigenetic smoking indicators with oxidative

stress among older adults: a population-based study. *European Journal of Epidemiology*, 32(5), 443–456. <https://doi.org/10.1007/s10654-017-0248-9>

García-Río, F., Calle, M., Burgos, F., Casan, P., del Campo, F., Galdiz, J. B., Giner, J., González-Mangado, N., Ortega, F., & Puente Maestu, L. (2013). Espirometría. *Archivos de Bronconeumología*, 49(9), 388–401. <https://doi.org/10.1016/j.arbres.2013.04.001>

Gea, J., Martínez-Llorens, J., & Barreiro, E. (2014). Alteraciones nutricionales en la enfermedad pulmonar obstructiva crónica. *Medicina Clínica*, 143(2), 78–84. <https://doi.org/10.1016/j.medcli.2013.05.040>

Ghio, A. J., Hilborn, E. D., Stonehuerner, J. G., Dailey, L. A., Carter, J. D., Richards, J. H., Crissman, K. M., Foronjy, R. F., Uyeminami, D. L., & Pinkerton, K. E. (2008). Particulate Matter in Cigarette Smoke Alters Iron Homeostasis to Produce a Biological Effect. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 178(11), 1130–1138. <https://doi.org/10.1164/rccm.200802-334OC>

Gimeno-Santos, E., Frei, A., Steurer-Stey, C., de Batlle, J., Rabinovich, R. A., Raste, Y., Hopkinson, N. S., Polkey, M. I., van Remoortel, H., Troosters, T., Kulich, K., Karlsson, N., Puhan, M. A., & Garcia-Aymerich, J. (2014). Determinants and outcomes of physical activity in patients with COPD: a systematic review. *Thorax*, 69(8), 731–739. <https://doi.org/10.1136/thoraxjnl-2013-204763>

GOLD. (2011). Global Strategy for the Diagnosis, Management, and Prevention of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease*, 28. http://www.goldcopd.org/uploads/users/files/GOLD_Report_2011_Feb21.pdf

GOLD. (2024). Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of Chronic Obstructive Pulmonary Disease (2024 Report). *Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease*. https://goldcopd.org/wp-content/uploads/2024/02/GOLD-2024_v1.2-11Jan24_WMV.pdf

Golpe, R., Martín-Robles, I., & Sanjuán-López, P. (2017). Combustión de biomasa como factor de riesgo para enfermedad pulmonar obstructiva crónica en España. *Archivos de Bronconeumología*, 53(5), 289. <https://doi.org/10.1016/j.arbres.2016.11.012>

Günes-Günsel, G., Conlon, T. M., Jeridi, A., Kim, R., Ertüz, Z., Lang, N. J., Ansari, M., Novikova, M., Jiang, D., Strunz, M., Gaianova, M., Hollauer, C., Gabriel, C., Angelidis, I., Doll, S., Pestoni, J. C., Edelmann, S. L., Kohlhepp, M. S., Guillot, A., ... Yildirim, A. Ö. (2022). The

arginine methyltransferase PRMT7 promotes extravasation of monocytes resulting in tissue injury in COPD. *Nature Communications*, 13(1), 1303.

<https://doi.org/10.1038/s41467-022-28809-4>

Günther, F., Straub, R. H., Hartung, W., Fleck, M., Ehrenstein, B., & Schminke, L. (2024). Association of Serum Soluble Transferrin Receptor Concentration With Markers of Inflammation: Analysis of 1001 Patients From a Tertiary Rheumatology Center. *The Journal of Rheumatology*, 51(3), 291–296. <https://doi.org/10.3899/jrheum.2023-0654>

Guo, P., Li, R., Piao, T. H., Wang, C. L., Wu, X. L., & Cai, H. Y. (2022). Pathological Mechanism and Targeted Drugs of COPD. *International Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease*, Volume 17, 1565–1575. <https://doi.org/10.2147/COPD.S366126>

Hanania, N. A., Ambrosino, N., Calverley, P., Cazzola, M., Donner, C. F., & Make, B. (2005). Treatments for COPD. *Respiratory Medicine*, 99, S28–S40.
<https://doi.org/10.1016/j.rmed.2005.09.013>

Hardang, I. M., Søyseth, V., Kononova, N., Hagve, T. A., & Einvik, G. (2024). COPD: Iron Deficiency and Clinical Characteristics in Patients With and Without Chronic Respiratory Failure. *Chronic Obstructive Pulmonary Diseases*, 11(3), 261–269.
<https://doi.org/10.15326/jcopdf.2023.0477>

Hawkins, N. M., Petrie, M. C., Jhund, P. S., Chalmers, G. W., Dunn, F. G., & McMurray, J. J. V. (2009). Heart failure and chronic obstructive pulmonary disease: diagnostic pitfalls and epidemiology. *European Journal of Heart Failure*, 11(2), 130–139.
<https://doi.org/10.1093/eurjhf/hfn013>

Hayrapetyan, H., Tran, T., Tellez-Corrales, E., & Madiraju, C. (2023). *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay: Types and Applications* (pp. 1–17). https://doi.org/10.1007/978-1-0716-2903-1_1

Higham, A., Beech, A., Wolosianka, S., Jackson, N., Long, G., Kolsum, U., Southworth, T., Pham, T., Sridhar, S., McCrae, C., Newbold, P., & Singh, D. (2021). Type 2 inflammation in eosinophilic chronic obstructive pulmonary disease. *Allergy*, 76(6), 1861–1864.
<https://doi.org/10.1111/all.14661>

Hong, L., Chen, X., Liu, Y., Liang, H., Zhao, Y., & Guo, P. (2025). The relationship between ferroptosis and respiratory infectious diseases: a novel landscape for therapeutic approach. *Frontiers in Immunology*, 16(March), 1–11.

<https://doi.org/10.3389/fimmu.2025.1550968>

Hoult, G., Gillespie, D., Wilkinson, T. M. A., Thomas, M., & Francis, N. A. (2022). Biomarkers to guide the use of antibiotics for acute exacerbations of COPD (AECOPD): a systematic review and meta-analysis. *BMC Pulmonary Medicine*, 22(1), 1–16.

<https://doi.org/10.1186/s12890-022-01958-4>

Hurst, J. R., Donaldson, G. C., Perera, W. R., Wilkinson, T. M. A., Bilello, J. A., Hagan, G. W., Vessey, R. S., & Wedzicha, J. A. (2006). Use of Plasma Biomarkers at Exacerbation of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 174(8), 867–874. <https://doi.org/10.1164/rccm.200604-506OC>

Jia, B., Li, J., Song, Y., & Luo, C. (2023). ACSL4-Mediated Ferroptosis and Its Potential Role in Central Nervous System Diseases and Injuries. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(12), 1–17. <https://doi.org/10.3390/ijms241210021>

Jiang, W., Liu, J., Cui, J., Su, J., Xu, W., Zhang, F., & Ding, Y. (2023). Ferroptosis plays a crucial role in lung cell damage caused by ventilation stretch. *Free Radical Biology and Medicine*, 209, 84–95. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2023.10.381>

Jin, X., Yang, Y., Chen, G., Shao, Y., Liu, C., Li, R., Liu, Y., & Zhang, L. (2024). Correlation between body composition and disease severity in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Frontiers in Medicine*, 11. <https://doi.org/10.3389/fmed.2024.1304384>

Johns, D. P., Walters, J. A., & Walters, E. H. (2014). Diagnosis and early detection of COPD using spirometry. *Journal of Thoracic Diseases*, 11, 1557–1569.
<https://doi.org/10.3978/j.issn.2072-1439.2014.08.18>

Jones, P., Harding, G., Wiklund, I., Berry, P., & Leidy, N. (2009). Improving the process and outcome of care in COPD: development of a standardised assessment tool. *Primary Care Respiratory Journal*, 18(3), 208–215. <https://doi.org/10.4104/pcrj.2009.00053>

Jones, P. W., Harding, G., Berry, P., Wiklund, I., Chen, W.-H., & Kline Leidy, N. (2009). Development and first validation of the COPD Assessment Test. *European Respiratory Journal*, 34(3), 648–654. <https://doi.org/10.1183/09031936.00102509>

Jones, P. W., Quirk, F. H., & Baveystock, C. M. (1991). The St George's Respiratory Questionnaire. *Respiratory Medicine*, 85, 25–31. [https://doi.org/10.1016/S0954-6111\(06\)80166-6](https://doi.org/10.1016/S0954-6111(06)80166-6)

Kang, M., Kwon, S., Lee, W., Kim, Y., Bae, E., Lee, J., Park, J. Y., Kim, Y. C., Kim, E. Y., Kim, D. K.,

- Lim, C. S., Kim, Y. S., & Lee, J. P. (2022). Soluble transferrin receptor can predict all-cause mortality regardless of anaemia and iron storage status. *Scientific Reports*, 12(1), 1–8. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-15674-w>
- Kim, J. H., Yoon, H. Il, Oh, Y.-M., Lim, S. Y., Lee, J.-H., Kim, T.-H., Lee, S. Y., Lee, J. H., Lee, S.-D., & Lee, C. H. (2015). Lung function decline rates according to GOLD group in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *International Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease*, 1819. <https://doi.org/10.2147/COPD.S87766>
- Kim, V., Han, M. K., Vance, G. B., Make, B. J., Newell, J. D., Hokanson, J. E., Hersh, C. P., Stinson, D., Silverman, E. K., & Criner, G. J. (2011). The Chronic Bronchitic Phenotype of COPD. *Chest*, 140(3), 626–633. <https://doi.org/10.1378/chest.10-2948>
- Koga, Y., Deguchi, S., Matsuo, T., Suzuki, A., Terashima, G., Tajima, T., Shibata, Y., & Sagara, H. (2024). Underdiagnosis of COPD: The Japan COPD Real-World Data Epidemiological (CORE) Study. *International Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease, Volume 19*, 1011–1019. <https://doi.org/10.2147/COPD.S450270>
- Konstorum, A., Tesfay, L., Paul, B. T., Torti, F. M., Laubenbacher, R. C., & Torti, S. V. (2020). Systems biology of ferroptosis: A modeling approach. *Journal of Theoretical Biology*, 493, 110222. <https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2020.110222>
- Kreutzer, H. J. (1976). An immunological turbidimetric method for serum transferrin determination. *Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry. Zeitschrift Fur Klinische Chemie Und Klinische Biochemie*, 14(8), 401–406. <https://doi.org/10.1515/cclm.1976.14.1-12.401>
- Lakhal-Littleton, S., & Cleland, J. G. F. (2024). Iron deficiency and supplementation in heart failure. *Nature Reviews Cardiology*, 21(7), 463–486. <https://doi.org/10.1038/s41569-024-00988-1>
- Lee, P., Gildea, T. R., & Stoller, J. K. (2002). Emphysema in nonsmokers: alpha 1-antitrypsin deficiency and other causes. *Cleveland Clinic Journal of Medicine*, 69(12), 928–929. <https://doi.org/10.3949/ccjm.69.12.928>
- Li, C.-L., Liu, J.-F., & Liu, S.-F. (2024). Mitochondrial Dysfunction in Chronic Obstructive Pulmonary Disease: Unraveling the Molecular Nexus. *Biomedicines*, 12(4), 814. <https://doi.org/10.3390/biomedicines12040814>
- Li, C.-L., & Liu, S.-F. (2024). Exploring Molecular Mechanisms and Biomarkers in COPD: An

Overview of Current Advancements and Perspectives. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(13), 7347. <https://doi.org/10.3390/ijms25137347>

- Li, C., Chen, F., Lin, L., Li, J., Zheng, Y., & Chen, Q. (2023). CSE triggers ferroptosis via SIRT4-mediated GNPAT deacetylation in the pathogenesis of COPD. *Respiratory Research*, 24(1), 1–15. <https://doi.org/10.1186/s12931-023-02613-0>
- Li, M., Chen, D., Ke, J., Zheng, R., Su, J., ZHENG, Z., LUO, J., MAI, H., JIANG, F., QU, Y., GU, X., ZHU, B., LI, Y., & ZUO, L. (2023). Inhibition of H₂O₂-induced apoptosis of GC2-spg cells by functionalized selenium nanoparticles with lentinan through ROS-mediated ERK/p53 signaling pathways. *BIOCELL*, 47(2), 401–408.
<https://doi.org/10.32604/biocell.2023.025154>
- Li, Y., Yang, Y., & Yang, Y. (2022). Multifaceted Roles of Ferroptosis in Lung Diseases. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 9. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2022.919187>
- Liu, J., Zhang, Z., Yang, Y., Di, T., Wu, Y., & Bian, T. (2022). NCOA4-Mediated Ferroptosis in Bronchial Epithelial Cells Promotes Macrophage M2 Polarization in COPD Emphysema. *International Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease*, Volume 17, 667–681.
<https://doi.org/10.2147/COPD.S354896>
- Liu, W., Zhu, Y., Ye, W., Xiong, J., Wang, H., Gao, Y., Huang, S., Zhang, Y., Zhou, X., Zhou, X., Ge, X., Cai, W., & Zheng, X. (2025). Redox regulation of TRIM28 facilitates neuronal ferroptosis by promoting SUMOylation and inhibiting OPTN-selective autophagic degradation of ACSL4. *Cell Death & Differentiation*, 32(6), 1041–1057.
<https://doi.org/10.1038/s41418-025-01452-4>
- Liu, X., Ma, Y., Luo, L., Zong, D., Li, H., Zeng, Z., Cui, Y., Meng, W., & Chen, Y. (2022). Dihydroquercetin suppresses cigarette smoke induced ferroptosis in the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease by activating Nrf2-mediated pathway. *Phytomedicine*, 96(December 2021), 153894.
<https://doi.org/10.1016/j.phymed.2021.153894>
- Liu, Xu, Z.-P., Guan, Y.-Q., Wang, Y.-Y., Wen, X.-S., Li, G.-H., Wang, X.-N., & Shen, T. (2025). Ethyl acetate fraction of Thesium chinense Turcz. alleviates chronic obstructive pulmonary disease through inhibition of ferroptosis mediated by activating Nrf2/SLC7A11/GPX4 axis. *Journal of Ethnopharmacology*, 337(May 2024), 118776.
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2024.118776>

- Liu, Y., & Gu, W. (2022). P53 in Ferroptosis Regulation: the New Weapon for the Old Guardian. *Cell Death and Differentiation*, 29(5), 895–910. <https://doi.org/10.1038/s41418-022-00943-y>
- Lu, W., Aarsand, R., Schotte, K., Han, J., Lebedeva, E., Tsoy, E., Maglakelidze, N., Soriano, J. B., Bill, W., Halpin, D. M. G., Rivera, M. P., Fong, K. M., Kathuria, H., Yorgancioğlu, A., Gappa, M., Lam, D. C. L., Rylance, S., & Sohal, S. S. (2024). Tobacco and COPD: presenting the World Health Organization (WHO) Tobacco Knowledge Summary. *Respiratory Research*, 25(1). <https://doi.org/10.1186/s12931-024-02961-5>
- Luo, Y., Zhou, L., Li, Y., Guo, S., Li, X., Zheng, J., Zhu, Z., Chen, Y., Huang, Y., Chen, R., & Chen, X. (2016). Fat-Free Mass Index for Evaluating the Nutritional Status and Disease Severity in COPD. *Respiratory Care*, 61(5), 680–688. <https://doi.org/10.4187/respcare.04358>
- Macario, C. C., Tajes, J. P. de T., & Palmero, M. Á. M. (2009). EPOC y malnutrición. *Archivos de Bronconeumología*, 45, 31–35. [https://doi.org/10.1016/S0300-2896\(09\)72861-3](https://doi.org/10.1016/S0300-2896(09)72861-3)
- Macarioa, C. C., Martín, I. G.-T., Tajés, J., & Torres, P. de. (2005). La disnea en la EPOC. *Archivos de Bronconeumología*, 41, 24–32. [https://doi.org/10.1016/S0210-5705\(09\)71003-9](https://doi.org/10.1016/S0210-5705(09)71003-9)
- MacLeod, M., Papi, A., Contoli, M., Beghé, B., Celli, B. R., Wedzicha, J. A., & Fabbri, L. M. (2021). Chronic obstructive pulmonary disease exacerbation fundamentals: Diagnosis, treatment, prevention and disease impact. *Respirology*, 26(6), 532–551. <https://doi.org/10.1111/resp.14041>
- Marin, J. M., Cote, C. G., Diaz, O., Lisboa, C., Casanova, C., Lopez, M. V., Carrizo, S. J., Pinto-Plata, V., Dordelly, L. J., Nekach, H., & Celli, B. R. (2011). Prognostic assessment in COPD: Health related quality of life and the BODE index. *Respiratory Medicine*, 105(6), 916–921. <https://doi.org/10.1016/j.rmed.2011.01.007>
- Marott, J. L., Ingebrigtsen, T. S., Çolak, Y., Vestbo, J., & Lange, P. (2021). Trajectory of Preserved Ratio Impaired Spirometry: Natural History and Long-Term Prognosis. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 204(8), 910–920. <https://doi.org/10.1164/rccm.202102-0517OC>
- Martín-Ontiyuelo, C., Rodó-Pin, A., Sancho-Muñoz, A., Martínez-Llorens, J. M., Admetlló, M., Molina, L., Gea, J., Barreiro, E., & Chiaradía, D. A. R. (2019). Is iron deficiency modulating physical activity in COPD? *International Journal of COPD*, 14, 211–214. <https://doi.org/10.2147/COPD.S182700>

- Mast, A. E., Blinder, M. A., Gronowski, A. M., Chumley, C., & Scott, M. G. (1998). Clinical utility of the soluble transferrin receptor and comparison with serum ferritin in several populations. *Clinical Chemistry*, 44(1), 45–51. <https://doi.org/10.1093/clinchem/44.1.45>
- Matera, M. G., Cazzola, M., & Page, C. (2021). Prospects for COPD treatment. *Current Opinion in Pharmacology*, 56, 74–84. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2020.11.003>
- Matsushita, M., Freigang, S., Schneider, C., Conrad, M., Bornkamm, G. W., & Kopf, M. (2015). T cell lipid peroxidation induces ferroptosis and prevents immunity to infection. *Journal of Experimental Medicine*, 212(4), 555–568. <https://doi.org/10.1084/jem.20140857>
- McGrady, T., Mannino, D., Malanga, E., Thomashow, B., Walsh, J., Sandhaus, R., & Stoller, J. (2014). Characteristics of Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD) Patients Reporting Alpha-1 Antitrypsin Deficiency in the WebMD Lung Health Check Database. *Chronic Obstructive Pulmonary Diseases: Journal of the COPD Foundation*, 2(2), 141–151. <https://doi.org/10.15326/jcopdf.2.2.2014.0160>
- Meng, D., Zhu, C., Jia, R., Li, Z., Wang, W., & Song, S. (2023). The molecular mechanism of ferroptosis and its role in COPD. *Frontiers in Medicine*, 9. <https://doi.org/10.3389/fmed.2022.1052540>
- Mikkelsen, R. L., Middelboe, T., Pisinger, C., & Stage, K. B. (2004). Anxiety and depression in patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD). A review. *Nordic Journal of Psychiatry*, 58(1), 65–70. <https://doi.org/10.1080/08039480310000824>
- Milne, S., & Sin, D. D. (2020). Biomarkers in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Clinics in Chest Medicine*, 41(3), 383–394. <https://doi.org/10.1016/j.ccm.2020.06.001>
- Minakata, Y., Hayata, A., Matsunaga, K., Nakanishi, M., & Yamamoto, N. (2016). Differences in physical activity according to mMRC grade in patients with COPD. *International Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease*, Volume 11, 2203–2208. <https://doi.org/10.2147/COPD.S109694>
- Miravitlles, M., Calle, M., Molina, J., Almagro, P., Gómez, J.-T., Trigueros, J. A., Cosío, B. G., Casanova, C., López-Campos, J. L., Riesco, J. A., Simonet, P., Rigau, D., Soriano, J. B., Ancochea, J., & Soler-Cataluña, J. J. (2022). Actualización 2021 de la Guía Española de la EPOC (GesEPOC). Tratamiento farmacológico de la EPOC estable. *Archivos de Bronconeumología*, 58(1), 69–81. <https://doi.org/10.1016/j.arbres.2021.03.005>
- Miravitlles, M., & Ribera, A. (2017). Understanding the impact of symptoms on the burden of

COPD. *Respiratory Research*, 18(1), 67. <https://doi.org/10.1186/s12931-017-0548-3>

Miravitles, M., Soler-Cataluña, J. J., Calle, M., Molina, J., Almagro, P., Quintano, J. A., Riesco, J. A., Trigueros, J. A., Piñera, P., Simón, A., López-Campos, J. L., Soriano, J. B., & Ancochea, J. (2012). Guía Española de la EPOC (GesEPOC). Tratamiento farmacológico de la EPOC estable. *Archivos de Bronconeumología*, 48(7), 247–257.
<https://doi.org/10.1016/j.arbres.2012.04.001>

Motegi, T., Jones, Ishii, Hattori, Kusunoki, Yamada, Gemma, Kida, K., & Furutate, R. (2013). A comparison of three multidimensional indices of COPD severity as predictors of future exacerbations. *International Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease*, 259.
<https://doi.org/10.2147/COPD.S42769>

Myronenko, O., Curcic, P., Douschan, P., Zeder, K., John, T., Suessner, S., Hoetzenrecker, K., Kovacs, G., Olschewski, A., Olschewski, H., & Foris, V. (2025). Soluble Transferrin Receptor-1 in Pulmonary Hypertension Associated with COPD. *Lung*, 203(1).
<https://doi.org/10.1007/s00408-025-00833-3>

Oishi, K., Matsunaga, K., Shirai, T., Hirai, K., & Gon, Y. (2020). Role of Type2 Inflammatory Biomarkers in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Journal of Clinical Medicine*, 9(8), 2670. <https://doi.org/10.3390/jcm9082670>

Okonko, D. O., Grzeslo, A., Witkowski, T., Mandal, A. K. J., Slater, R. M., Roughton, M., Foldes, G., Thum, T., Majda, J., Banasiak, W., Missouris, C. G., Poole-Wilson, P. A., Anker, S. D., & Ponikowski, P. (2008). Effect of Intravenous Iron Sucrose on Exercise Tolerance in Anemic and Nonanemic Patients With Symptomatic Chronic Heart Failure and Iron Deficiency. FERRIC-HF: A Randomized, Controlled, Observer-Blinded Trial. *Journal of the American College of Cardiology*, 51(2), 103–112. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2007.09.036>

Pan, L., Gong, C., Sun, Y., Jiang, Y., Duan, X., Han, Y., & Wang, Y. (2022). Induction mechanism of ferroptosis: A novel therapeutic target in lung disease. *Frontiers in Pharmacology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.1093244>

Park, E., & Chung, S. W. (2019). ROS-mediated autophagy increases intracellular iron levels and ferroptosis by ferritin and transferrin receptor regulation. *Cell Death and Disease*, 10(11). <https://doi.org/10.1038/s41419-019-2064-5>

Pauwels, R. A., & Rabe, K. F. (2004). Burden and clinical features of chronic obstructive pulmonary disease (COPD). *The Lancet*, 364(9434), 613–620.

[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(04\)16855-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(04)16855-4)

Pavord, I., Chapman, K., Bafadhel, M., Sciurba, F. C., Bradford, E. S., Schweiker Harris, S., Mayer, B., Rubin, D. B., Yancey, S. W., & Paggiaro, P. (2021). Mepolizumab for Eosinophil-Associated COPD: Analysis of METREX and METREO. *International Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease, Volume 16*, 1755–1770.

<https://doi.org/10.2147/COPD.S294333>

Perret, J., Yip, S. W. S., Idrose, N. S., Hancock, K., Abramson, M. J., Dharmage, S. C., Walters, E. H., & Waidyatillake, N. (2023). Undiagnosed and ‘overdiagnosed’ COPD using postbronchodilator spirometry in primary healthcare settings: a systematic review and meta-analysis. *BMJ Open Respiratory Research, 10*(1), e001478.

<https://doi.org/10.1136/bmjresp-2022-001478>

Pesek, R., & Lockey, R. (2011). Vaccination of adults with asthma and COPD. *Allergy, 66*(1), 25–31. <https://doi.org/10.1111/j.1398-9995.2010.02462.x>

Pizzini, A., Aichner, M., Sonnweber, T., Tancevski, I., Weiss, G., & Löffler-Ragg, J. (2020). The significance of iron deficiency and anemia in a real-life copd cohort. *International Journal of Medical Sciences, 17*(14), 2232–2239. <https://doi.org/10.7150/ijms.46163>

Qin, R., Wang, P., & Li, L. (2024). Knockdown of JMJD3 ameliorates cigarette smoke extract-triggered bronchial epithelial cell injury via ACSL4-dependent ferroptosis. *Toxicology in Vitro, 94*, 105731. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2023.105731>

Qiyuan, P., Changyang, L., Gaigai, L., Ju, Q., & Xun, Z. (2024). Prognostic value of procalcitonin in acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease: A systematic review and meta-analysis. *PLOS ONE, 19*(12), e0312099. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0312099>

Ras-Jiménez, M. del M., Ramos-Polo, R., Francesch Manzano, J., Corbella Santano, M., Morillas Climent, H., Jose-Bazán, N., Jiménez-Marrero, S., Garcimartin Cerezo, P., Yun Viladomat, S., Moliner Borja, P., Torres Cardús, B., Verdú-Rotellar, J. M., Diez-López, C., González-Costello, J., García-Romero, E., de Frutos Seminario, F., Triguero-Llonch, L., Enjuanes Grau, C., Tajes Orduña, M., & Comin-Colet, J. (2023). Soluble Transferrin Receptor as Iron Deficiency Biomarker: Impact on Exercise Capacity in Heart Failure Patients. *Journal of Personalized Medicine, 13*(8), 1282. <https://doi.org/10.3390/jpm13081282>

Rezvani, A., Masoompour, S. M., Azarpira, N., Monjazeb, R., Akbarzadeh, M., Salimi, M., &

Shahriarirad, R. (2023). Serum levels of erythropoietin in patients with chronic obstructive pulmonary disease and anemia. *Scientific Reports*, 13(1), 1–6.
<https://doi.org/10.1038/s41598-023-34290-w>

Rodrigues, S. de O., Cunha, C. M. C. da, Soares, G. M. V., Silva, P. L., Silva, A. R., & Gonçalves-de-Albuquerque, C. F. (2021). Mechanisms, Pathophysiology and Currently Proposed Treatments of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Pharmaceuticals*, 14(10), 979.
<https://doi.org/10.3390/ph14100979>

Salvi, S. (2014). Tobacco Smoking and Environmental Risk Factors for Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Clinics in Chest Medicine*, 35(1), 17–27.
<https://doi.org/10.1016/j.ccm.2013.09.011>

Sarkar, M., Bhardwaj, R., Madabhavi, I., & Khatana, J. (2015). Osteoporosis in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Clinical Medicine Insights: Circulatory, Respiratory and Pulmonary Medicine*, 9, CCRPM.S22803. <https://doi.org/10.4137/CCRPM.S22803>

Schols, A. M., Broekhuizen, R., Weling-Scheepers, C. A., & Wouters, E. F. (2005). Body composition and mortality in chronic obstructive pulmonary disease. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 82(1), 53–59. <https://doi.org/10.1093/ajcn.82.1.53>

Seemungal, T. A. R., DONALDSON, G. C., BHOWMIK, A., JEFFRIES, D. J., & WEDZICHA, J. A. (2000). Time Course and Recovery of Exacerbations in Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 161(5), 1608–1613. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.161.5.9908022>

Serban, K. A., Pratte, K. A., & Bowler, R. P. (2021). Protein Biomarkers for COPD Outcomes. *Chest*, 159(6), 2244–2253. <https://doi.org/10.1016/j.chest.2021.01.004>

Shah, K. P. K., Bhat, H. P., Kadam, M., Kachalia, P., Kuchi, Y., Siroha, M., & Banerjee, A. (2024). Assessment of the BODE Index and Its Association With Inflammatory Mediators in Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD) Patients. *Cureus*.
<https://doi.org/10.7759/cureus.72172>

Shah, R., Shchepinov, M. S., & Pratt, D. A. (2018). Resolving the Role of Lipoxygenases in the Initiation and Execution of Ferroptosis. *ACS Central Science*, 4(3), 387–396.
<https://doi.org/10.1021/acscentsci.7b00589>

Shimada, T., Chubachi, S., Otake, S., Sakurai, K., Sasaki, M., Iijima, H., Tanabe, N., Tanimura, K., Shimizu, K., Shirahata, T., Suzuki, M., Sato, S., Nakamura, H., Asano, K., & Fukunaga, K.

(2023). Differential impacts between fat mass index and fat-free mass index on patients with COPD. *Respiratory Medicine*, 217, 107346.

<https://doi.org/10.1016/j.rmed.2023.107346>

Singh, D., Agustí, A., Anzueto, A., Barnes, P. J., Bourbeau, J., Celli, B. R., Criner, G. J., Frith, P., Halpin, D. M. G., Han, M., López Varela, M. V., Martínez, F., Montes de Oca, M., Papi, A., Pavord, I. D., Roche, N., Sin, D. D., Stockley, R., Vestbo, J., ... Vogelmeier, C. (2019). Global Strategy for the Diagnosis, Management, and Prevention of Chronic Obstructive Lung Disease: the GOLD science committee report 2019. *European Respiratory Journal*, 53(5), 1900164. <https://doi.org/10.1183/13993003.00164-2019>

Singh, D., Criner, G. J., Agustí, A., Bafadhel, M., Söderström, J., Luporini Saraiva, G., Song, Y., Licaj, I., Jison, M., Martin, U. J., & Psallidas, I. (2023). Benralizumab Prevents Recurrent Exacerbations in Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease: A Post Hoc Analysis. *International Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease*, Volume 18, 1595–1599. <https://doi.org/10.2147/COPD.S418944>

Sivapalan, P., & Jensen, J.-U. (2022). Biomarkers in Chronic Obstructive Pulmonary Disease: Emerging Roles of Eosinophils and Procalcitonin. *Journal of Innate Immunity*, 14(2), 89–97. <https://doi.org/10.1159/000517161>

Soler-Cataluña, J. J., Martínez-García, M. Á., Sánchez, L. S., Tordera, M. P., & Sánchez, P. R. (2009). Severe exacerbations and BODE index: Two independent risk factors for death in male COPD patients. *Respiratory Medicine*, 103(5), 692–699.
<https://doi.org/10.1016/j.rmed.2008.12.005>

Soler-Cataluña, J. J., Piñera, P., Trigueros, J. A., Calle, M., Casanova, C., Cosío, B. G., López-Campos, J. L., Molina, J., Almagro, P., Gómez, J.-T., Riesco, J. A., Simonet, P., Rigau, D., Soriano, J. B., Ancochea, J., & Miravitles, M. (2022). Actualización 2021 de la guía española de la EPOC (GesEPOC). Diagnóstico y tratamiento del síndrome de agudización de la EPOC. *Archivos de Bronconeumología*, 58(2), 159–170.
<https://doi.org/10.1016/j.arbres.2021.05.011>

Soriano, J. B., Alfageme, I., Miravitles, M., de Lucas, P., Soler-Cataluña, J. J., García-Río, F., Casanova, C., Rodríguez González-Moro, J. M., Cosío, B. G., Sánchez, G., & Ancochea, J. (2021). Prevalence and Determinants of COPD in Spain: EPISCAN II. *Archivos de Bronconeumología*, 57(1), 61–69. <https://doi.org/10.1016/j.arbres.2020.07.024>

Soriano, J. B., Lamprecht, B., Ramírez, A. S., Martínez-Camblor, P., Kaiser, B., Alfageme, I.,

Almagro, P., Casanova, C., Esteban, C., Soler-Cataluña, J. J., De-Torres, J. P., Miravitlles, M., Celli, B. R., Marin, J. M., Puhan, M. A., Sobradillo, P., Lange, P., Sternberg, A. L., Garcia-Aymerich, J., ... Sin, D. D. (2015). Mortality prediction in chronic obstructive pulmonary disease comparing the GOLD 2007 and 2011 staging systems: a pooled analysis of individual patient data. *The Lancet Respiratory Medicine*, 3(6), 443–450.
[https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(15\)00157-5](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(15)00157-5)

Speeckaert, M. M., Speeckaert, R., & Delanghe, J. R. (2010). Biological and clinical aspects of soluble transferrin receptor. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, 47(5–6), 213–228. <https://doi.org/10.3109/10408363.2010.550461>

Spruit, M. A., Watkins, M. L., Edwards, L. D., Vestbo, J., Calverley, P. M. A., Pinto-Plata, V., Celli, B. R., Tal-Singer, R., & Wouters, E. F. M. (2010). Determinants of poor 6-min walking distance in patients with COPD: The ECLIPSE cohort. *Respiratory Medicine*, 104(6), 849–857. <https://doi.org/10.1016/j.rmed.2009.12.007>

Spyratos, D., Chloros, D., Michalopoulou, D., Tsionprou, I., Christoglou, K., & Sichletidis, L. (2021). Underdiagnosis, false diagnosis and treatment of COPD in a selected population in Northern Greece. *European Journal of General Practice*, 27(1), 97–102.
<https://doi.org/10.1080/13814788.2021.1912729>

Stafyla, E., Gourgoulianis, K., & Kerenidi, T. (2013). Chronic obstructive pulmonary disease exacerbation frequency and severity. *International Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease*, 533. <https://doi.org/10.2147/COPD.S53318>

Su, X., Han, L. Y., Wang, J., Zhang, Y., Luo, P. Y., Gao, S., Fan, Y. C., Wang, J. W., & Wang, K. (2024). Hypermethylation of the glutathione peroxidase 4 promoter predicts poor prognosis in patients with hepatitis B virus-associated acute-on-chronic liver failure. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 11(July), 1–14.
<https://doi.org/10.3389/fmolb.2024.1421597>

Szasz, G., Gruber, W., & Bernt, E. (1976). Creatine kinase in serum: 1. Determination of optimum reaction conditions. *Clinical Chemistry*, 22(5), 650–656.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4240>

Takahashi, N., Cho, P., Selfors, L. M., Kuiken, H. J., Kaul, R., Fujiwara, T., Harris, I. S., Zhang, T., Gygi, S. P., & Brugge, J. S. (2020). 3D Culture Models with CRISPR Screens Reveal Hyperactive NRF2 as a Prerequisite for Spheroid Formation via Regulation of Proliferation and Ferroptosis. *Molecular Cell*, 80(5), 828-844.e6.

<https://doi.org/10.1016/j.molcel.2020.10.010>

Tang, X., Li, Z., Yu, Z., Li, J., Zhang, J., Wan, N., Zhang, J., & Cao, J. (2021). Effect of curcumin on lung epithelial injury and ferroptosis induced by cigarette smoke. *Human and Experimental Toxicology*, 40(12_suppl), S753–S762.

<https://doi.org/10.1177/09603271211059497>

Taylor, J. D. (2010). COPD and the response of the lung to tobacco smoke exposure. *Pulmonary Pharmacology & Therapeutics*, 23(5), 376–383.

<https://doi.org/10.1016/j.pupt.2010.04.003>

The Long-Term Oxygen Treatment Trial Research Group. (2016). A Randomized Trial of Long-Term Oxygen for COPD with Moderate Desaturation. *New England Journal of Medicine*, 375(17), 1617–1627. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1604344>

Tramontano, A., & Palange, P. (2023). Nutritional State and COPD: Effects on Dyspnoea and Exercise Tolerance. *Nutrients*, 15(7), 1786. <https://doi.org/10.3390/nu15071786>

Trinder, P. (1969). Determination of blood glucose using an oxidase-peroxidase system with a non-carcinogenic chromogen. *Journal of Clinical Pathology*, 22(2), 158–161.
<https://doi.org/10.1136/jcp.22.2.158>

van der Molen, T., Willemse, B. W. M., Schokker, S., ten Hacken, N. H. T., Postma, D. S., & Juniper, E. F. (2003). Development, validity and responsiveness of the clinical COPD questionnaire. *Health and Quality of Life Outcomes*, 1, 1–10.
<https://doi.org/10.1186/1477-7525-1-13>

Vanfleteren, L. E. G. W., Lindberg, A., Zhou, C., Nyberg, F., & Stridsman, C. (2023). Exacerbation Risk and Mortality in Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease Group A and B Patients with and without Exacerbation History. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 208(2), 163–175. <https://doi.org/10.1164/rccm.202209-1774OC>

Venkatesan, P. (2024). GOLD COPD report: 2024 update. *The Lancet Respiratory Medicine*, 12(1), 15–16. [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(23\)00461-7](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(23)00461-7)

Viglio, S., Bak, E. G., Schouten, I. G. M., Iadarola, P., & Stolk, J. (2021). Protease-Specific Biomarkers to Analyse Protease Inhibitors for Emphysema Associated with Alpha 1-Antitrypsin Deficiency. An Overview of Current Approaches. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(3), 1065. <https://doi.org/10.3390/ijms22031065>

Viritha, P., Kiran, L. H., Rongali, A., Charishma, P., G. Ravindra Babu, & Babu, B. R. (2022).

Evaluation of correlation of oxygen desaturation with bode index in stable COPD patients.
International Journal of Health Sciences, 3184–3192.
<https://doi.org/10.53730/ijhs.v6nS6.11191>

Voelkel, N. F., Gomez-Arroyo, J., & Mizuno, S. (2011). COPD/Emphysema: The Vascular Story.
Pulmonary Circulation, 1(3), 320–326. <https://doi.org/10.4103/2045-8932.87295>

Wang, B., Wang, Y., Zhang, J., Hu, C., Jiang, J., Li, Y., & Peng, Z. (2023). ROS-induced lipid peroxidation modulates cell death outcome: mechanisms behind apoptosis, autophagy, and ferroptosis. *Archives of Toxicology*, 97(6), 1439–1451.
<https://doi.org/10.1007/s00204-023-03476-6>

Wang, C., Hua, S., & Song, L. (2023). Ferroptosis in pulmonary fibrosis: an emerging therapeutic target. *Frontiers in Physiology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fphys.2023.1205771>

Wang, Wen, X., Guo, Y., Wang, Y., & Gu, Y. (2025). TFRC Ablation Induces Insufficient Cartilage Development Through Mitochondrial p53 Translocation-Mediated Ferroptosis.
International Journal of Molecular Sciences, 26(6). <https://doi.org/10.3390/ijms26062724>

Wang, Y., & Xia, S. (2023). Relationship Between ACSL4-Mediated Ferroptosis and Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *International Journal of COPD*, 18, 99–111.
<https://doi.org/10.2147/COPD.S391129>

Wang, Z., Lin, J., Liang, L., Huang, F., Yao, X., Peng, K., Gao, Y., & Zheng, J. (2025). Global, regional, and national burden of chronic obstructive pulmonary disease and its attributable risk factors from 1990 to 2021: an analysis for the Global Burden of Disease Study 2021. *Respiratory Research*, 26(1), 2. <https://doi.org/10.1186/s12931-024-03051-2>

Watz, H., Pitta, F., Rochester, C. L., Garcia-Aymerich, J., ZuWallack, R., Troosters, T., Vaes, A. W., Puhan, M. A., Jehn, M., Polkey, M. I., Vogiatzis, I., Clini, E. M., Toth, M., Gimeno-Santos, E., Waschki, B., Esteban, C., Hayot, M., Casaburi, R., Porszasz, J., ... Spruit, M. A. (2014). An official European Respiratory Society statement on physical activity in COPD. *European Respiratory Journal*, 44(6), 1521–1537.
<https://doi.org/10.1183/09031936.00046814>

Wedzicha, J. A., & Seemungal, T. A. (2007). COPD exacerbations: defining their cause and prevention. *The Lancet*, 370(9589), 786–796. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(07\)61382-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(07)61382-8)

Wei, Y. Y., Chen, T. T., Zhang, D. W., Zhang, Y., Li, F., Ding, Y. C., Wang, M. Y., Zhang, L., Chen, K.

- G., & Fei, G. H. (2025). Microplastics exacerbate ferroptosis via mitochondrial reactive oxygen species-mediated autophagy in chronic obstructive pulmonary disease. *Autophagy*, 21(8), 1717–1743. <https://doi.org/10.1080/15548627.2025.2481126>
- Wu, Y., Jiang, Y., Xiao, B., Xie, L., Zhou, N., Zeng, A., & Liu, C. (2025). TFR1 as a Biomarker of Pulmonary Fibrosis Development in COPD Patients. *International Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease*, Volume 20, 2715–2725. <https://doi.org/10.2147/COPD.S527782>
- Xu, H., Czyżowska, A., Van Remmen, H., & Brown, J. L. (2023). Modulation of sarcopenia phenotypes by glutathione peroxidase 4 overexpression in mice. *The Journal of Physiology*, 601(23), 5277–5293. <https://doi.org/10.1113/JP285259>
- Xu, M., Feng, P., Yan, J., & Li, L. (2025). Mitochondrial quality control: a pathophysiological mechanism and potential therapeutic target for chronic obstructive pulmonary disease. *Frontiers in Pharmacology*, 15. <https://doi.org/10.3389/fphar.2024.1474310>
- Xu, R., Wang, W., & Zhang, W. (2023). Ferroptosis and the bidirectional regulatory factor p53. *Cell Death Discovery*, 9(1), 1–8. <https://doi.org/10.1038/s41420-023-01517-8>
- Yan, H. fa, Zou, T., Tuo, Q. zhang, Xu, S., Li, H., Belaidi, A. A., & Lei, P. (2021). Ferroptosis: mechanisms and links with diseases. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 6(1). <https://doi.org/10.1038/s41392-020-00428-9>
- Yan, X., Xu, L., Qi, C., Chang, Y., Zhang, J., Li, N., Shi, B., Guan, B., Hu, S., Huang, C., Wang, H., Chen, Y., Xu, X., Lu, J., Xu, G., Chen, C., Li, S., & Chen, Y. (2025). Brazilin alleviates acute lung injury via inhibition of ferroptosis through the SIRT3/GPX4 pathway. *Apoptosis*, 30(3–4), 768–783. <https://doi.org/10.1007/s10495-024-02058-w>
- Yang, W. S., Sriramaratnam, R., Welsch, M. E., Shimada, K., Skouta, R., Viswanathan, V. S., Cheah, J. H., Clemons, P. A., Shamji, A. F., Clish, C. B., Brown, L. M., Girotti, A. W., Cornish, V. W., Schreiber, S. L., & Stockwell, B. R. (2014). Regulation of ferroptotic cancer cell death by GPX4. *Cell*, 156(1–2), 317–331. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.12.010>
- Yin, B., Ren, J., Cui, Q., Liu, X., Wang, Z., Pei, H., Zuo, J., Zhang, Y., Wen, R., Sun, X., Zhang, W., & Ma, Y. (2023). Astaxanthin alleviates fine particulate matter (PM 2.5)-induced lung injury in rats by suppressing ferroptosis and apoptosis. *Food & Function*, 14(24), 10841–10854. <https://doi.org/10.1039/D3FO03641C>
- Yoshida, M., Minagawa, S., Araya, J., Sakamoto, T., Hara, H., Tsubouchi, K., Hosaka, Y.,

Ichikawa, A., Saito, N., Kadota, T., Sato, N., Kurita, Y., Kobayashi, K., Ito, S., Utsumi, H., Wakui, H., Numata, T., Kaneko, Y., Mori, S., ... Kuwano, K. (2019). Involvement of cigarette smoke-induced epithelial cell ferroptosis in COPD pathogenesis. *Nature Communications*, 10(1), 3145. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-10991-7>

Yuan, H., Li, X., Zhang, X., Kang, R., & Tang, D. (2016). Identification of ACSL4 as a biomarker and contributor of ferroptosis. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 478(3), 1338–1343. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2016.08.124>

Zhang, Fu, C., Liu, J., Sai, X., Qin, C., Di, T., Yang, Y., Wu, Y., & Bian, T. (2021). Hypermethylation of the Nrf2 Promoter Induces Ferroptosis by Inhibiting the Nrf2-GPX4 Axis in COPD. *International Journal of COPD*, 16(December), 3347–3362.
<https://doi.org/10.2147/COPD.S340113>

Zhang, L., Li, D., Chang, C., & Sun, Y. (2022). Myostatin/HIF2 α -Mediated Ferroptosis is Involved in Skeletal Muscle Dysfunction in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *International Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease*, 17, 2383–2399.
<https://doi.org/10.2147/COPD.S377226>

Zhang, W., Sun, Z., Cheng, W., Li, X., Zhang, J., Li, Y., Tan, H., Ji, X., Zhang, L., & Tang, J. (2024). Impaired GPX4 activity elicits ferroptosis in alveolar type II cells promoting PHMG-induced pulmonary fibrosis development. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 281, 116680. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2024.116680>

Zhang, Xian, Staimer, N., Gillen, D. L., Tjoa, T., Schauer, J. J., Shafer, M. M., Hasheminassab, S., Pakbin, P., Vaziri, N. D., Sioutas, C., & Delfino, R. J. (2016). Associations of oxidative stress and inflammatory biomarkers with chemically-characterized air pollutant exposures in an elderly cohort. *Environmental Research*, 150, 306–319.
<https://doi.org/10.1016/j.envres.2016.06.019>

Zhang, Xuan, Zhu, X., Wang, X., Wang, L., Sun, H., Yuan, P., & Ji, Y. (2023). Association of Exposure to Biomass Fuels with Occurrence of Chronic Obstructive Pulmonary Disease in Rural Western China: A Real-World Nested Case-Control Study. *International Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease*, Volume 18, 2207–2224.
<https://doi.org/10.2147/COPD.S417600>

Zhao, P., Lv, X., Zhou, Z., Yang, X., Huang, Y., & Liu, J. (2023). Indexes of ferroptosis and iron metabolism were associated with the severity of diabetic nephropathy in patients with type 2 diabetes mellitus: a cross-sectional study. *Frontiers in Endocrinology*, 14.

<https://doi.org/10.3389/fendo.2023.1297166>

Zhao, Z., Xu, Z., Chang, J., He, L., Zhang, Z., Song, X., Hou, X., Fan, F., & Jiang, Z. (2023). Sodium pyruvate exerts protective effects against cigarette smoke extract-induced ferroptosis in alveolar and bronchial epithelial cells through the GPX4/Nrf2 axis. *Journal of Inflammation (United Kingdom)*, 20(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/s12950-023-00347-w>

Zi, Y., Wang, X., Zi, Y., Yu, H., Lan, Y., Fan, Y., Ren, C., Liao, K., & Chen, H. (2023). Cigarette smoke induces the ROS accumulation and iNOS activation through deactivation of Nrf-2/SIRT3 axis to mediate the human bronchial epithelium ferroptosis. *Free Radical Biology and Medicine*, 200, 73–86. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2023.03.002>