

## Polimorfismos del ADN mitocondrial y mortalidad en la sepsis. ¿Hemos hallado la aguja en el pajar?

J. GARNACHO MONTERO<sup>a</sup> Y C. GARNACHO MONTERO<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Servicio de Cuidados Críticos y Urgencias. Unidad de Cuidados Intensivos.  
Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla. España.

<sup>b</sup>Institute for Environmental Medicine. University of Pennsylvania. Filadelfia. EE.UU.

La sepsis constituye en la actualidad la principal causa de muerte en los pacientes ingresados en las Unidades de Cuidados Intensivos (UCI) y su incidencia ha aumentado en los últimos años de forma significativa<sup>1</sup>. A pesar de los potentes antimicrobianos de que disponemos, de los avances en las técnicas de soporte hemodinámico, renal y respiratorio así como de algunos recientes tratamientos para modular la respuesta inflamatoria, la mortalidad de la sepsis grave y el shock séptico continúa siendo muy elevada. Si bien la mortalidad puede reducirse con una resucitación precoz y con un tratamiento antibiótico adecuado, muchos pacientes correctamente manejados fallecen<sup>2</sup>. En algunos de ellos, las enfermedades previas pueden explicar la fatal evolución. No obstante, en muchos casos no tenemos una explicación clara de por qué algunos pacientes que sufren una infección evolucionan mal, o por qué algunos enfermos con sepsis progresan a sepsis grave y shock séptico, mientras otros con similar terapéutica no lo hacen.

En la década de los 90 se publicaron los primeros estudios que identificaron dos polimorfismos del gen del factor de necrosis tumoral (FNT), el cual se encuentra en el brazo corto del cromosoma 6, que se aso-

ciaba a una mayor mortalidad en pacientes con sepsis grave o shock séptico<sup>3,4</sup>. Esto fue acogido con gran entusiasmo por la comunidad científica, que literalmente se lanzó a determinar las variantes genéticas de prácticamente todos los mediadores implicados en la respuesta innata y adaptativa de la sepsis y su asociación con la mortalidad o con el riesgo de desarrollar una sepsis grave. Los resultados de estos estudios posteriores han sido en muchas ocasiones discordantes, y no se han confirmado por otros investigadores. Así, no se ha demostrado en otras series que estos dos polimorfismos de un único nucleótido del FNT (-308 de la región promotora del FNT- $\alpha$  y en posición 250 del primer intrón de FNT- $\beta$ ) se asocien a mayor mortalidad en pacientes con sepsis grave o con neumonía comunitaria<sup>5,8</sup>. Otros ejemplos de resultados discordantes al analizar diversos mediadores o receptores celulares implicados en la sepsis los tenemos en el polimorfismo de un único nucleótido situado en posición -260 de la región promotora del gen del receptor CD14<sup>9,10</sup>, en el polimorfismo genético por repeticiones en tándem en el intrón 2 del gen IL-1ra<sup>11,12</sup>, o al analizar varios polimorfismos situados en la región promotora del gen de la IL-10<sup>8,13,14</sup>.

Como la determinación de un único polimorfismo produce resultados tan discordantes, algunos investigadores han realizado la determinación de haplotipos (conjunto de alelos polimórficos que ocurren en un cromosoma) de un determinado gen, analizando su asociación con el pronóstico. Así, se ha demostrado en 228 pacientes con SRIS que el haplotipo 174G/1753C/2954G de la IL-6 se asocia a una menor mortalidad que los restantes haplotipos de estos tres polimorfismos de un único nucleótido<sup>15</sup>. De igual modo, se ha demostrado que el haplotipo -592C/734G/3367G del gen de la IL-10 se asocia a

Correspondencia: Dr. J. Garnacho-Montero.  
Unidad de Cuidados Intensivos.  
Hospital Universitario Virgen del Rocío.  
Avda. Manuel Siurot, s/n.  
41013 Sevilla. España.  
Correo electrónico: jose.garnacho.sspa@juntadeandalucia.es y  
jgmrtji@arrakis.es

Manuscrito aceptado el 14-IX-2006.

una mayor mortalidad en pacientes con sepsis, sólo cuando el origen es pulmonar, pero no en otros focos de infección<sup>16</sup>.

### ADN MITOCONDRIAL

La mitocondria es la única organela de la célula que contiene ADN, además del núcleo, así como su propia maquinaria para sintetizar ARN y proteínas. El ADN mitocondrial humano es una estructura circular de doble cadena que contiene 37 genes. De ellos, 24 son necesarios para la traducción del ADN mitocondrial y 13 codifican componentes esenciales de la cadena respiratoria (algunas subunidades se codifican en el núcleo). Este ADN mitocondrial no sigue la genética mendeliana en tres aspectos importantes: herencia materna, heteroplasmia (dentro de una misma célula, las mutaciones patológicas están presentes en algunas moléculas de ADN pero no en otras) y segregación mitótica (la distribución aleatoria de las organelas en la división celular hace que varíe la proporción de ADN con mutaciones que recibe cada célula hija)<sup>17</sup>.

El ADN mitocondrial codifica algunas de las proteínas que componen la cadena respiratoria. Dicha cadena contiene cinco complejos multiméricos y debe su trascendencia a que es el mecanismo para la producción de energía mediante la síntesis de adenosín trifosfato (ATP). En el ADN mitocondrial se han descrito diversos cambios en la secuencia del genoma, caracterizándose diversos polimorfismos de un único nucleótido. Uno de los haplotipos, el H, que es el más frecuente en la población europea, se ha asociado a diversas enfermedades y se postula que se asocia a un incremento de la actividad de la cadena respiratoria. Sin embargo, hay que puntualizar que los autores se basan en un artículo que evalúa causas de reducción de motilidad de los espermatozoides y donde se demuestra que el haplotipo T, al compararlo con el haplotipo H, presenta una reducción de la actividad de los complejos I y IV, reducción que podría ser suficiente para inducir diferencias en los niveles de producción de ATP<sup>18</sup>. Como estos autores reconocen, no saben si ésta es una peculiaridad de las mitocondrias de los espermatozoides o si también se da en otros tejidos del organismo.

### HAPLOTIPOS DEL ADN MITOCONDRIAL Y PRONÓSTICO DE SEPSIS

Basado en estos datos, se ha publicado recientemente un estudio realizado en un centro del Reino Unido, en el que se ha evaluado la asociación del haplotipo H con la mortalidad en 150 pacientes que ingresan en la UCI con sepsis grave. Además, se genotiparon 542 controles sanos de similar edad. Los resultados de dicha investigación pueden resumirse en dos conclusiones: la frecuencia de presentación del haplotipo H no difiere entre los pacientes con sepsis y la población control, por lo que poseer dicho haplotipo no parece ser un factor predisponente

para el desarrollo de sepsis grave, y el haplotipo H es un factor independiente de mortalidad tardía (a los 180 días) tras ajustar por variables de confusión<sup>19</sup>.

Este estudio difiere de la mayoría de los que anteriormente han evaluado la asociación de variantes genéticas con el pronóstico de la sepsis en dos aspectos metodológicos importantes, sobre los que queremos reflexionar. En primer lugar, y como valor positivo, existe un cálculo muestral preciso y bien realizado el cual se basa en la frecuencia conocida en la población del haplotipo H. En segundo lugar, no analiza la mortalidad hospitalaria o a los 28 días como suele ser habitual, sino el impacto sobre mortalidad tardía, a los 6 meses del evento, lo cual no se había realizado en ninguno de los estudios previos, e impide la comparación con los mismos. Si bien es conocido que el impacto sobre la supervivencia de un episodio de sepsis es prolongado, ya que se incrementa el riesgo de muerte durante más de cinco años<sup>20</sup>, seis meses parece un período excesivamente prolongado para evaluar el impacto sobre la mortalidad, dado que en el pronóstico de los pacientes críticos influyen muchas circunstancias, entre ellas las enfermedades subyacentes y las complicaciones adquiridas en la UCI. En este estudio, la mortalidad en la UCI fue del 27%, que casi se duplicó hasta el 49% a los 6 meses. Lamentablemente, los autores no muestran el análisis de asociación de la mortalidad en UCI u hospitalaria y el genotipo del ADN mitocondrial.

Se nos plantea el interrogante de si, con el estudio de Baudouin et al<sup>19</sup>, hemos por fin hallado la explicación a la diversa susceptibilidad que presentan los sujetos a una infección, o si futuros estudios no confirmarían estos resultados, como ha ocurrido previamente con otros mediadores analizados. La sepsis es un potente activador de la respuesta inmune, inflamatoria y de la coagulación del huésped. Como han demostrado Calvano et al en un interesantísimo estudio<sup>21</sup>, tras la inyección de endotoxina a voluntarios sanos se activan más de 1.500 genes, algunos sobre-expresándose y otros disminuyendo su expresión. No podemos olvidar que si bien «sólo» el 0,1% de la secuencia genómica es variable entre individuos, en cifras absolutas supone que más de 3 millones de pares de bases constituyen las variaciones en el genoma humano<sup>22</sup>. Todo ello, junto con la complejidad del pronóstico de la sepsis, hace que los estudios de susceptibilidad genética deban cumplir estrictamente unas premisas que resumimos en la tabla 1.

Posiblemente, no será un único cambio en la secuencia de un gen lo que nos anticipe el pronóstico de los pacientes con sepsis. Tenemos que seguir en el camino de identificar los polimorfismos genéticos que predicen una evolución desfavorable en pacientes con sepsis. Para ello, aprendiendo de errores previos, hemos de seguir una metodología más adecuada, y basarnos en fundados conocimientos de genética y biología molecular. Sólo así hallaremos la aguja en el pajar<sup>23</sup>.

**TABLA 1. Criterios a seguir por los estudios de asociación entre variantes genéticas y mortalidad en sepsis**

<p>A. Variantes genéticas a estudiar</p> <ol style="list-style-type: none"><li>1. Elección de variantes genéticas de demostrada significación funcional<ol style="list-style-type: none"><li>a. Reducción o aumento de la producción de una proteína</li><li>b. Síntesis de una proteína anómala</li></ol></li><li>2. Análisis de un mediador que participe de forma crucial en la respuesta de la sepsis</li><li>3. Evaluar genes responsables de cambios funcionales y no otros que se encuentren en desequilibrio de ligamiento</li></ol> <p>B. Aspectos metodológicos</p> <ol style="list-style-type: none"><li>1. Tamaño muestral adecuado (evitar error tipo II)<ol style="list-style-type: none"><li>a. Según frecuencia de la variante a genotipar</li><li>b. Permitir evaluar efecto de variables de confusión: comorbilidades, focos de sepsis y microorganismos implicados</li></ol></li><li>2. Definir objetivo primario: mortalidad hospitalaria</li><li>3. Evaluar el cumplimiento de las variables terapéuticas que influyen la mortalidad: adecuación de antibioterapia, reposición de fluidos, empleo de proteína C activada, terapia insulínica intensiva y estrategia protectora de la ventilación mecánica</li></ol>
--

#### Declaración de conflicto de intereses

Los autores han declarado no tener ningún conflicto de intereses.

#### BIBLIOGRAFÍA

1. Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, Clermont G, Carcillo J, Pinsky MR. Epidemiology of severe sepsis in the United States: Analysis of incidence, outcome, and associated cost of care. *Crit Care Med.* 2001;29:1303-10.
2. Garnacho-Montero J, García-Garmendia JL, Barrero-Almodovar A, Jiménez-Jiménez FJ, Pérez-Paredes C, Ortiz-Leyba C. Impact of adequate empirical antibiotic therapy on the outcome of patients admitted to the intensive care unit with sepsis. *Crit Care Med.* 2003;31:2742-51.
3. Stuber F, Petersen M, Bokelmann F, Schade U. A genomic polymorphism within the tumor necrosis factor locus influences plasma tumor necrosis factor- $\alpha$  concentrations and outcome of patients with severe sepsis. *Crit Care Med.* 1996;24:381-4.
4. Mira JP, Cariou A, Grall F, Delclaux C, Losser MR, Heshmati F, et al. Association of TNF2, a TNF- $\alpha$  promoter polymorphism, with septic shock susceptibility and mortality. *JAMA.* 1999;281:1919-26.
5. Rauchschalbe SK, Maseizik T, Mittelkotter U, Schluter B, Patzig C, Thiede A, et al. Effect of the LT- $\alpha$  (+250 G/A) polymorphism on markers of inflammation and clinical outcome in critically ill patients. *J Trauma.* 2004;56:815-22.
6. Gordon AC, Lagan AL, Aganna E, Cheung L, Peters CJ, McDermott MF, et al. TNF and TNFR polymorphisms in severe

sepsis and septic shock: a prospective multicentre study. *Genes Immunity.* 2004;5:631-40.

7. Waterer GW, Quasney MW, Cantor RM, Wunderink RG. Septic shock and respiratory failure in community-acquired pneumonia have different TNF polymorphism associations. *Am J Resp Crit Care Med.* 2001;163:1599-604.

8. Gallagher PM, Lowe G, Fitzgerald T, Bella A, Greene CM, McElvaney NG, et al. Association of IL-10 polymorphism with severity of illness in community acquired pneumonia. *Thorax.* 2003;58:154-6.

9. Gibot S, Cariou A, Drouet L, Rossignol M, Ripoll L. Association between a genomic polymorphism within the CD14 locus and septic shock susceptibility and mortality rate. *Crit Care Med.* 2002;30:969-73.

10. Sutherland AM, Walley KR, Russel JA. Polymorphisms in CD14, mannose-binding lectin, and Toll-like receptor-2 are associated with increased prevalence of infection in critically ill adults. *Crit Care Med.* 2005;33:638-44.

11. Arnalich F, López-Maderuelo D, Codoceo R, López J, Solís-Garrido LM, Capiscol C, et al. Interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphism and mortality in patients with severe sepsis. *Clin Exp Immunol.* 2002;127:331-6.

12. Fang XM, Schroder S, Hoefl A, Stuber F. Comparison of two polymorphisms of the interleukin-1 gene family: interleukin-1 receptor antagonist polymorphism contributes to susceptibility to severe sepsis. *Crit Care Med.* 1999;7:1330-4.

13. Lowe PR, Galley HF, Abdel-Fattah A, Webster NR. Influence of interleukin-10 polymorphisms on interleukin-10 expression and survival in critically ill patients. *Crit Care Med.* 2003;31:34-8.

14. Reid CL, Perrey C, Pravica V, Hutchinson IV, Campbell IT. Genetic variation in proinflammatory and anti-inflammatory cytokine production in multiple organ dysfunction syndrome. *Crit Care Med.* 2002;30:2216-21.

15. Sutherland AM, Walley KR, Manocha S, Russell JA. The association of interleukin 6 haplotype clades with mortality in critically ill adults. *Arch Inter Med.* 2005;165:78-82.

16. Wattanathum A, Manocha S, Groshau HS, Russel JAI, Walley KR. Interleukin-10 haplotype associated with increased mortality in critically ill patients with sepsis from pneumonia but not in patients with extrapulmonary sepsis. *Chest.* 2005;128:1690-8.

17. DiMauro S, Schon EA. Mitochondrial respiratory-chain diseases. *N Engl J Med.* 2003;348:2656-68.

18. Ruiz-Pesini E, Lapeña AC, Díez-Sánchez C, Pérez-Martos A, Montoya J, Álvarez E, et al. Human mtDNA haplogroups associated with high or reduced spermatozoa motility. *Am J Hum Genet.* 2000;67:682-96.

19. Baudouin S, Saunders D, Tiangyou W, Elson J, Poynter J, Pyle A, et al. Mitochondrial DNA and survival after sepsis: a prospective study. *Lancet.* 2005;366:2118-21.

20. Quartin AA, Schein RM, Kett DH, Peduzzi PN. Magnitude and duration of the effect of sepsis on survival. *JAMA.* 1997;277:1058-63.

21. Calvano SE, Xiao W, Richards DR, Felciano RM, Baker HV, Cho RJ, et al. A network analysis of systemic inflammation in humans. *Nature.* 2005;437:1032-7.

22. Sutherland AM, Russell JA. Issue with polymorphism analysis in sepsis. *Clin Infect Dis.* 2005;41:S396-402.

23. Freeman BD, Buchmann TG. Gene in a hay stack: tumor necrosis factor polymorphism and outcome in sepsis. *Crit Care Med.* 2000;28:3090-1.