

Polimorfismos genéticos en la sepsis

J. GARNACHO MONTERO^a, M.C. GARNACHO MONTERO^b, C. ORTIZ LEYBA^a
Y T. ALDABÓ PALLÁS^a

^aServicio de Cuidados Críticos y Urgencias. Unidad de Cuidados Intensivos.
Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla. España.

^bCenter for Neurobiology and Behavior. Department of Genetic. University of Pennsylvania. Philadelphia. USA.

Un polimorfismo genético (PG) es una variante alélica que existe de forma estable en una población. Para ser considerado un PG, debe presentar una frecuencia de al menos el 1%. Son, por lo tanto, diferentes de las mutaciones, que son mucho menos frecuentes y van asociadas, habitualmente, a enfermedades hereditarias.

Se han descrito varios PG en la sepsis y en el shock séptico. Pueden asociarse con una mayor incidencia de sepsis en la población general, o con una mayor gravedad y mortalidad una vez que la sepsis se ha presentado.

Se han descrito PG de la proteína ligadora de la endotoxina, receptor CD14, factor de necrosis tumoral beta (TNF- β), TNF- α , interleucina 1 alfa (IL-1 α), IL-1 β , IL-1 ra, IL-6 e IL-10. Los diversos estudios difieren al definir la relevancia de cada PG en particular, probablemente debido en parte a diferentes momentos en la inclusión de los enfermos, pequeño tamaño muestral, inclusión de enfermos de diferentes etnias y errores metodológicos en la determinación del PG.

PALABRAS CLAVE: *sepsis, polimorfismo genético, mortalidad.*

GENETIC POLYMORPHISMS IN SEPSIS

A genetic polymorphism (GP) is an allelic variation that appears in stable form in a population. An incidence of at least 1% is necessary for a GP to be considered as such. So, GP are different from mutations because mutations are less

common, and appear associated usually to hereditary diseases. Several GP have been detected in sepsis and septic shock. GP can be associated to higher incidence of sepsis in general population, and to higher sepsis severity and mortality once the disease is evolving

GPs of ligand protein endotoxin, CD14 receptor, TNF- β , TNF- α , IL-1 α , IL-1 β , IL-1 ra, IL-6, IL-10 have been described. Results of various studies have been different with regard to relevance of every GP, probably because of differences in the inclusion of patients in the studies, small samples, inclusion of patients of different ethnic groups, and methodological errors in GP ascertainment.

KEY WORDS: *sepsis, genetic polymorphism, mortality.*

INTRODUCCIÓN

La sepsis constituye en la actualidad la principal causa de muerte en los pacientes ingresados en las Unidades de Cuidados Intensivos y su incidencia ha aumentado en los últimos años. A pesar de los potentes antimicrobianos 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 como es la proteína C activada, la mortalidad de la sepsis grave y el shock séptico continúan siendo muy elevadas. Si bien esta mortalidad puede reducirse con una resucitación precoz y con un tratamiento antibiótico adecuado, muchos pacientes correctamente tratados fallecen¹. 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 sepsis grave evolucionan mal

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

o por qué algunos enfermos con sepsis progresan a sepsis grave y shock séptico mientras otros con similar terapéutica no lo hacen.

En los últimos años y con los avances en el conocimiento del genoma humano se ha prestado un gran interés en la susceptibilidad genética a las infecciones. Uno de los hallazgos más destacados de nuestro genoma es la elevadísima frecuencia de secuencias de ADN no codificadoras. Sólo el 1,1 a 1,4 de nuestro genoma humano de 3,2 gigabase se transcribe a ARN mensajero para codificar una proteína. Otro de los hallazgos más trascendentes es la elevada variabilidad en el genoma humano. Una de las principales causas de esta variabilidad es lo que conocemos como polimorfismo genético. Algunos de estos cambios se traducen en una modificación de la secuencia de aminoácidos de la proteína que codifica y en cambios en la producción de dicha proteína.

En el presente trabajo nos proponemos 4 objetivos:

1. Revisar la nomenclatura y los conceptos básicos de la genética relacionados con el polimorfismo genético.

2. Enumerar los polimorfismos más frecuentes descritos en los mediadores implicados en la respuesta a la agresión.

3. Analizar los trabajos que han estudiado la relación entre los diversos polimorfismos y la mortalidad en pacientes con sepsis.

4. Evaluar los estudios que se han diseñado para conocer si determinados polimorfismos se asocian a un mayor riesgo de desarrollo de sepsis tras una agresión como puede ser la gran cirugía o el traumatismo grave.

POLIMORFISMO GENÉTICO: CONCEPTOS

Un polimorfismo genético (PG) es una variante alélica que existe de forma estable en una población. Para ser considerado un PG, debe presentar una frecuencia de al menos el 1%. Son, por lo tanto, diferentes de las mutaciones, que son mucho menos frecuentes y van asociadas, habitualmente, a enfermedades hereditarias. Se pueden distinguir dos tipos de PG: los polimorfismos de repetición en tándem (VNTR, del inglés *variable number of tandem repeats*) y los polimorfismos de un solo nucleótido (SNP, del inglés *single nucleotide polymorphisms*).

Existen dos tipos de polimorfismos de repetición, los VNTR-minisatélites y los VNTR-microsatélites. Los minisatélites son *loci* que corresponden a secuencias de ADN de unas pocas decenas de nucleótidos repetidas en tándem. El número de dichas repeticiones varía de cromosoma a cromosoma, por lo que cada *loci* puede presentar muchos alelos distintos (tantos como repeticiones). Los minisatélites presentan el inconveniente de no estar distribuidos por todo el genoma y por lo tanto sólo pueden ser utilizados en el diagnóstico de un número muy reducido de enfermedades. Los microsatélites corresponden a la repetición en tándem de secuencias de entre 2 y 5 nucleótidos. Los microsatélites presentan dos

características que los hacen ideales para su uso. En primer lugar, están distribuidos de forma casi homogénea por todo el genoma y, en segundo lugar, presentan un número elevado de alelos con frecuencias similares entre sí, de forma que la probabilidad de que un individuo sea heterocigoto es muy elevada. El genoma humano contiene al menos 30.000 microsatélites localizados en la eucromatina.

El tipo más frecuente de PG es el de un solo nucleótido, o diferencias de una sola base que aparecen en la secuencia del ADN entre individuos de una población. Se estima que 1 de cada 200-300 bases del ADN humano podría ser un SNP². Los SNP pueden ocurrir tanto en regiones codificadoras (exones) como en no-codificadoras (intrones y promotores) del genoma (fig. 1). Debido a que sólo el 3%-5% del ADN humano codifica para la producción de proteínas, la mayoría de los SNP se encuentran fuera de las regiones codificadoras. Cuando el SNP ocurre dentro de la región codificadora del gen, o exón, la probabilidad de que se altere la función biológica de la proteína es mayor, ya que el cambio de base puede traducirse en la sustitución de un aminoácido por otro.

Mucho más frecuentemente, los SNP ocurren en regiones del gen que no se traducen en proteína. Sin embargo, estos SNP también pueden tener efectos biológicos. Por ejemplo, un SNP en la región promotora de un gen (parte de un gen que contiene la información necesaria para activarlo o desactivarlo) puede alterar la afinidad por la unión con factores de transcripción, o alterar la actividad *enhancer* (potente intensificador de la expresión de un gen), variando de esta forma los niveles de transcripción del gen y produciéndose, como consecuencia, cambios en los niveles de proteína. Los SNP en las regiones 5'UTR y 3'UTR (regiones 5' y 3' del ARNm, no traducidas) pueden alterar la estabilidad del ARN mensajero (ARNm), afectando su traducción a proteína. Parece menos probable que los SNP presentes en intrones (región no codificadora de un gen) también tengan un significado funcional. Es interesante señalar que los SNP situados en intrones son los más frecuentes, seguidos de los que se producen en regiones promotoras, siendo los menos frecuentes los SNP que afectan a la secuencia de aminoácidos, lo que refleja una gran presión selectiva que limita los cambios en las proteínas. También hay una enorme diversidad en la frecuencia de SNP entre genes, reflejando diferentes presiones selectivas en cada gen, así como diferencias en los niveles de mutación y recombinación a lo largo del genoma. Otro hecho muy interesante es el desequilibrio de ligamiento (*linkage disequilibrium*) que es el fenómeno por el que dos alelos en diferentes *loci* aparecen juntos más frecuentemente de lo que cabría esperar por probabilidad.

En relación con las diferencias en las clases de cambio de base en el ADN, las transiciones (púrica → púrica/pirimidínica → pirimidínica) son mucho más frecuentes que las transversiones (púrica → pirimidínica/pirimidínica → púrica). Además, los ale-

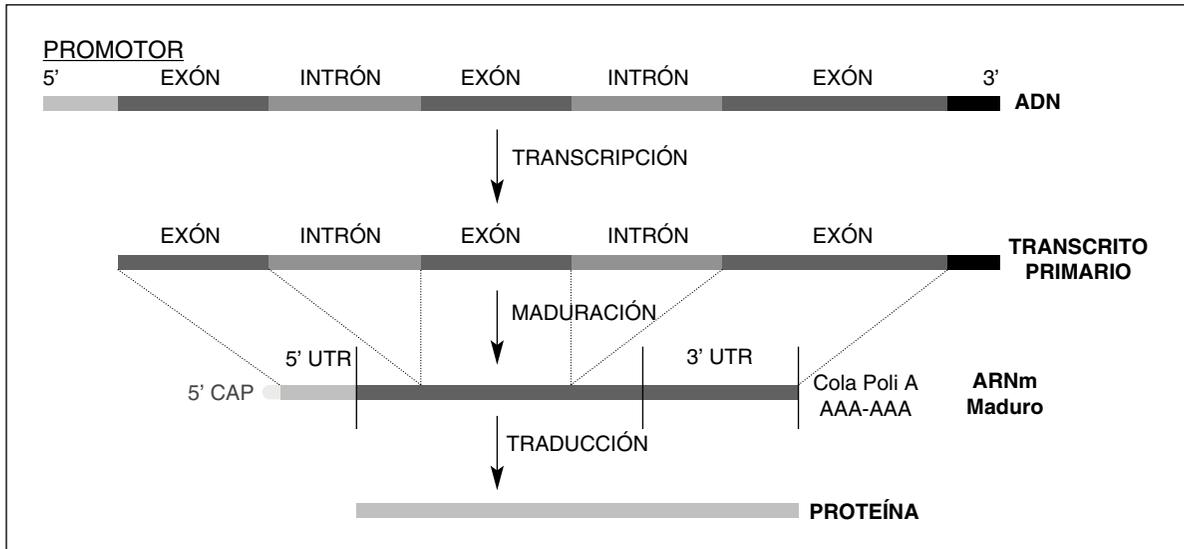


Figura 1. Estructura de un gen, transcripción y traducción a proteína.

los G (guanina) y C (citosina) tienden a ser los alelos más frecuentes, mientras que A (adenina) y T (ti-

mina) son generalmente los alelos menores². La terminología aquí empleada se resume en la tabla 1.

TABLA 1. Definiciones de los términos empleados

Término	Definición
Alelo	Una de las formas variantes de un gen en un <i>locus</i> o de un marcador particular en un cromosoma
ARN mensajero (ARNm)	Molde para la síntesis de proteínas
Bases púricas	Adenina (A) y guanina (G)
Bases pirimidínicas	Citosina (C) y timina (T)
Cebador	Secuencia corta de oligonucleótidos que se une en forma complementaria específica a una cadena única de ácido nucleico e inicia la síntesis de esa cadena en presencia de ADN polimerasa y nucleótidos en una reacción de PCR
Enzimas de restricción	Proteínas que tienen la propiedad de reconocer sitios específicos de ADN y cortar la molécula del ADN en ese sitio
<i>Enhancer</i>	Secuencia de ADN en la región promotora que intensifica la expresión de un gen
Eucromatina	ADN poco condensado que es activo transcripcionalmente
Exón	Región de un gen que contiene la información para producir la proteína del gen
Factor de transcripción	Proteína que se une al promotor y que se requiere para la transcripción
Fenotipo	Rasgos o características visibles de un individuo
Genotipo	Constitución genética del individuo
Haplotipo	Conjunto de alelos polimórficos que ocurren en un cromosoma
Intrón	Secuencia no codificadora de ADN que separa a dos exones
<i>Locus (loci, plural)</i>	Lugar del cromosoma donde está localizado un gen específico
Microsatélite	Regiones de ADN que contienen múltiples copias de secuencias repetitivas cortas de entre 2 y 5 nucleótidos
Minisatélite	Secuencias de ADN de 20-70 pares de bases repetidas en tándem
Polimorfismo genético	Existencia de dos o más alelos de un gen presentes en una población, en una frecuencia significativa
Polimorfismo genético de un solo nucleótido (SNP)	Variación en la secuencia del ADN debido al cambio de una sola base
Desequilibrio de ligamiento	Asociación no aleatoria de alelos de diferentes <i>loci</i> en una población
Promotor	Parte de la molécula de ADN que tiene la información para hacer que el gen se active y se desactive
Transición	Mutación consistente en el cambio de una base púrica por otra púrica o una pirimidínica por otra pirimidínica
Transversión	Mutación consistente en el cambio de una base púrica por una pirimidínica o una pirimidínica por una púrica
5'UTR	Extremo 5' del transcrito primario que contiene el codón de inicio (del inglés, <i>5'untranslated region</i>)
3'UTR	Extremo 3' del transcrito primario que contiene el codón de parada (del inglés, <i>3'untranslated region</i>)

PCR: reacción en cadena de polimerasa.

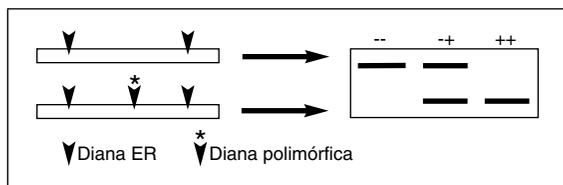


Figura 2. Polimorfismos del tamaño de fragmentos de restricción (RFLP). La pérdida o ganancia de una diana de restricción por efecto de la sustitución de un nucleótido puede ser detectado por las variaciones en los tamaños de los fragmentos de restricción. En la figura se presenta el resultado esperado de este tipo de polimorfismos en individuos homocigotos para la presencia de la diana (+ +), los homocigotos para la ausencia de diana (- -) y los heterocigotos (+ -). ER: enzima de restricción.

Métodos para genotipar polimorfismos genéticos

Los SNP pueden ser genotipados mediante la técnica de polimorfismos del tamaño de los fragmentos de restricción (RFLP del inglés, *restriction fragment length polymorphism*), mediante extensión del cebador, técnica que mide la capacidad del ADN polimerasa para extender un oligonucleótido a través de un sitio polimórfico en la presencia de nucleótidos que sólo permiten la extensión de una de las variantes, o mediante secuenciación del ADN. La primera de estas técnicas es la más utilizada por su facilidad de realización, si bien es una técnica que tiene como inconveniente el estar sujeta a cierta subjetividad. La RFLP se basa en que el cambio de un nucleótido altera la diana para una determinada enzima de restricción (ER) con lo que podemos detectar el polimorfismo en función de la variación que éste genera en el patrón de restricción. Para ello se amplifica el ADN con sondas específicas mediante reacción en cadena de polimerasa (PCR), se somete a restricción enzimática y posteriormente se realiza una electroforesis (fig. 2).

Los polimorfismos de repetición pueden ser genotipados mediante PCR, utilizando como cebadores oligonucleótidos que flanquean a la región que contiene la repetición. De cada individuo se amplifican fragmentos de ADN que difieren entre sí por el número de repeticiones. El resultado de la amplificación se fracciona en un gel de acrilamida para determinar el genotipo de cada individuo.

POLIMORFISMOS GENÉTICOS DE MOLÉCULAS Y RECEPTORES ENCARGADOS DE RECONOCER LA ENDOTOXINA

Proteína ligadora de lipopolisacárido

Polimorfismos de la proteína ligadora de lipopolisacárido

El gen que codifica la proteína ligadora de lipopolisacárido (LBP) se localiza en el cromosoma 20. Se han descrito en el exón de este gen dos SNP: en posición 291 en la que se sustituye un residuo de T por G y en posición 1306 en la que se cambia un re-

siduo de C por T. Ambos polimorfismos conllevan un cambio en la secuencia de aminoácidos.

Polimorfismos de la proteína ligadora de lipopolisacárido, sepsis y mortalidad

Al estudiar una cohorte de 204 pacientes con sepsis, el poseer un residuo G en posición 292 incrementaba el riesgo de sepsis al compararlo con el grupo control, si bien no afectaba a la mortalidad de los pacientes con sepsis³.

Receptor CD14

Polimorfismos del receptor CD14

El gen que codifica el receptor CD14 se localiza en el cromosoma 5. Se ha identificado un polimorfismo situado en posición -260, la región promotora del gen que codifica este receptor consistente en la sustitución de C por T.

Polimorfismos del receptor CD14, sepsis y mortalidad

Un estudio realizado en 90 pacientes con shock séptico ha demostrado que el genotipo TT de este polimorfismo es más frecuente que en el grupo control y que la mortalidad de estos sujetos es significativamente superior que en pacientes con otros genotipos. En el análisis multivariante controlando con otros factores de confusión, la edad (1,04; intervalo de confianza 95%, 1,01-1,08) y el genotipo TT (5,30; intervalo de confianza 95%, 1,20-22,50) se asociaron de forma independiente con un incremento del riesgo de muerte en Unidades de Cuidados Intensivos (UCI)⁴.

Polimorfismos del CD14 y desarrollo de sepsis

Hensen et al no han hallado influencia de este genotipo en el desarrollo de sepsis al evaluar 58 pacientes traumatizados con *injury severity score* (ISS) superior a 16⁵.

POLIMORFISMOS GENÉTICOS DE CITOCINAS PROINFLAMATORIAS

Factor de necrosis tumoral

El factor de necrosis tumoral (*tumor necrosis factor*, TNF) es la primera citocina que se libera tras la agresión de un agente infeccioso o de otro tipo. Es un activador de la inmunidad innata y favorece la acción de las células fagocíticas.

Polimorfismos del factor de necrosis tumoral

Diversos polimorfismos han sido identificados en el gen que codifica el TNF y que se encuentra en el brazo corto del cromosoma 6, lo cual explicaría que la producción de TNF varíe de un paciente a otro.

De todos ellos, dos son de especial interés y han sido ampliamente estudiados en el paciente crítico:

1. -308 (G/A) polimorfismo: en la región promotora del gen que codifica el TNF- α , en la posición -308, es decir, 308 nucleótidos antes de que empiece la región transcritora, existe una mutación descrita. Normalmente, este lugar está ocupado por un residuo de G pero en un 20% está ocupado por A. Dado que existen dos copias en el cromosoma, esta mutación puede ser G/G (80% de los casos), G/A (15%) o A/A (5%). Las copias que contienen G se denominan como alelo TNF1 y las que poseen A como TNF2. La presencia del alelo TNF2 se asocia con una mayor producción *in vitro* de TNF- α . Existen otros polimorfismos descritos en esta región promotora pero no se traducen en general en modificaciones en la producción del TNF- α y han sido escasamente estudiados en el paciente crítico.

2. El TNF- β , -NcoI polimorfismo: cerca de la región donde se codifica el TNF- α , se encuentra el gen para el TNF- β . El primer intrón (región de ADN que separa genes pero no codifica) de este gen posee un residuo A en posición 1069 (TNFB2) pero puede contener G (TNFB1). Las frecuencias de genotipos son: 10% para G/G, 50% para G/A y 40% para A/A. La variante G (TNFB1) se caracteriza porque es cortada específicamente por una enzima de restricción NcoI. Este polimorfismo conlleva un cambio de aminoácido en la posición 26 (asparagina para TNFB1 y treonina para TNFB2). Los sujetos homocigóticos TNFB1 presentan una mayor producción de TNF- β mientras que los homocigóticos para TNFB2 presentan mayor producción de TNF- α .

Polimorfismos del factor de necrosis tumoral, sepsis y mortalidad

Han sido publicados resultados contradictorios en cuanto a la repercusión sobre el pronóstico de estos dos polimorfismos del TNF en los pacientes con sepsis. Así, mientras en una serie de Stuber et al que estudió un grupo de pacientes con sepsis grave el ser TNF2 no se asoció a mayor mortalidad, en un estudio que incluyó 89 pacientes con shock séptico y 87 controles, los pacientes con alelo TNF2 (homocigóticos o heterocigóticos) presentaron mayor incidencia de shock séptico y mortalidad hospitalaria que los pacientes con TNFB1, si bien no hubo diferencias en los niveles circulantes de TNF- α . Tras un análisis multivariante para controlar con otras variables de confusión, los pacientes con el alelo TNF2 tenían un mayor riesgo de muerte (3,7; intervalo de confianza 95%, 1,37-10,24)⁶.

En cuanto al -NcoI polimorfismo, Stüber et al estudiaron el genotipo para TNFB en 40 pacientes con sepsis grave. La distribución en esta serie fue TNFB1 homocigótico 10%, TNFB1/TNFB2 heterocigótico 48% y TNFB2 homocigótico 42%. Aquellos pacientes que fallecieron tenían una más alta prevalencia de TNFB2 ($p < 0,005$). Los pacientes homocigóticos para TNFB2 tuvieron una más elevada mortalidad que los heterocigóticos

(TNFB1/TNFB2); ($p = 0,0022$), así como niveles circulantes de TNF más elevados. Resultados similares fueron posteriormente confirmados, en cuanto a mayor mortalidad para los homocigóticos de TNFB2, por este grupo al analizar el polimorfismo de los *heat shock protein* (HSP), proteínas celulares implicadas en los procesos de reparación de diversas proteínas esenciales para la supervivencia celular, y el polimorfismo de otras dos citocinas implicadas en la sepsis como la interleucina 1 (IL-1) y el antagonista del receptor de la IL-1 (IL-1 ra), sin que los polimorfismos de las HSP influyan en el pronóstico⁸.

Recientemente, un estudio que incluyó neumonías de la comunidad, demostró que los sujetos TNFB2 (AA) tienen mayor probabilidad de desarrollar shock séptico sin que exista influencia en el caso del polimorfismo -308 (G/A). Hay que destacar que el genotipo hiposecretor (TNFB1; GG) se asoció a una mayor frecuencia de fallo respiratorio. Ninguno de los dos polimorfismos del TNF se asoció a una mayor mortalidad⁹.

Polimorfismos del factor de necrosis tumoral y desarrollo de sepsis

El grupo de Stüber ha evaluado la influencia del -NcoI polimorfismo en el desarrollo de sepsis tras diversas situaciones de agresión. Así, en 110 pacientes con traumatismo grave, la sepsis grave fue significativamente más frecuente en sujetos homocigóticos para el alelo TNFB2¹⁰.

Interleucina

La IL-1 (IL-1 α e IL-1 β) es una importante citocina proinflamatoria mientras que IL-1 ra se une al mismo receptor pero no induce activación celular. Los tres genes correspondientes, localizados en el brazo largo del cromosoma 2, se denominan respectivamente IL1A, IL1B e IL1RN.

Polimorfismos de la familia de la interleucina 1

La IL-1 α posee 7 alelos según el número de repeticiones en tándem de 46 pares de bases en el intrón 6, la IL-1 β posee dos alelos en el exón 5 y el gen del IL-1 ra posee un número variable de repeticiones en tándem de 86 pb en el intrón 2 con 5 alelos. El gen IL1B contiene además, dos SNP en posición -511 y +3593 que influyen la producción *in vitro* de IL-1.

Polimorfismos de la interleucina 1, sepsis y mortalidad

Un estudio realizado en 93 pacientes con sepsis grave no halló relación entre los polimorfismos de la IL-1 β y del IL-1 ra y la mortalidad confirmando, por otro lado, la asociación entre la mortalidad y el alelo TNFB2 del TNF β NcoI polimorfismo. En este estu-

dio se observó que los pacientes con sepsis tenían una frecuencia significativamente superior del alelo RN2 respecto al grupo control.

Por contra, un estudio realizado en 78 pacientes con sepsis grave observó influencia del polimorfismo genético en el intrón 2 del gen IL-1 ra en el pronóstico de la sepsis. El riesgo de fallecer en el análisis multivariante fue significativamente superior para los pacientes homocigóticos para el alelo RN2 (6,47; intervalo de confianza 95%, 1,01-41,47)¹¹.

Interleucina 6

La IL-6 es una citocina mayoritariamente proinflamatoria que es sintetizada principalmente por el monocito/macrófago. Induce la síntesis de reactantes de fase aguda a nivel hepático.

Polimorfismos de la interleucina 6

Aunque han sido diversos polimorfismos en la región promotora del gen de la IL-6 que se encuentra en el cromosoma 7, sólo el localizado en la posición -174 ha sido evaluado en diversas situaciones clínicas. En esta posición existe un SNP que consiste en el cambio de una G por C. El alelo G se asocia con niveles más elevados de IL-6 en adultos sanos.

Polimorfismos de la interleucina 6, sepsis y mortalidad

En un estudio realizado en pacientes quirúrgicos, la mortalidad en la sepsis fue significativamente inferior en los sujetos homocigóticos GG con un riesgo relativo comparado con otros genotipos de 0,11 (intervalo de confianza 95%, 0,02-0,57). En este estudio, los homocigóticos GG no presentaban niveles séricos más elevados de IL-6 pero sí los pacientes que fallecieron tenían niveles séricos de IL-6 significativamente superiores que los que sobrevivieron. Los autores especulan que pueden existir otros polimorfismos genéticamente relacionados que expliquen estos hallazgos¹².

POLIMORFISMOS GENÉTICOS DE CITOCINAS ANTIINFLAMATORIAS

Interleucina 10

La IL-10 junto con la IL-4 son las citocinas antiinflamatorias más potentes. La IL-10 es sintetizada por los linfocitos Th2 e inhibe la producción de citocinas proinflamatorias por parte del monocito/macrófago.

Polimorfismos de la interleucina 10

El gen que codifica la IL-10 se encuentra en el cromosoma 1, habiéndose descrito diversos polimorfismos en la región promotora: -1082 (G/A), -819

(C/T) y -592 (C/A), si bien se ha demostrado que los polimorfismos en los pb -592 y -819 están en completo desequilibrio de ligamiento. En cuanto a la traducción de estos cambios se han obtenido resultados contradictorios. Así, se ha comprobado que en la mutación en posición -1082, el cambio de G por A conlleva modificaciones en la síntesis de esta citocina ya que en los pacientes homocigóticos GG la producción es significativamente superior que en los sujetos homocigóticos que poseen un residuo de A en dicha posición¹³. Por el contrario, recientemente, se ha observado que este cambio de pares de base en -1082 no se traduce en diferencias en la producción *in vitro* de IL-10 mientras que los sujetos homocigóticos CC en posición -592 tienen la más elevada liberación de esta citocina¹⁴.

Polimorfismos de la interleucina 10, sepsis y mortalidad

En cuanto a la traducción clínica de estas mutaciones, estudios recientes han mostrado conclusiones contradictorias estudiando grupos heterogéneos de pacientes críticos. Así, Reid et al¹⁵ sólo mostraron que el genotipo hiperproductor de IL-10 era significativamente menos frecuente en los pacientes que ingresaban en UCI con síndrome de disfunción multiorgánica (SDMO) respecto a un grupo control sin que ningún genotipo de la IL-10 se asociara a mayor mortalidad.

Como hemos visto a lo largo de esta revisión, se han evaluado múltiples polimorfismos en pacientes críticos obteniéndose resultados no siempre coincidentes e incluso en ocasiones contradictorios. Los factores que pueden explicar este hecho son múltiples:

1. Momento de inclusión en los estudios: el momento de identificación de los pacientes es extremadamente importante para obtener conclusiones válidas sobre un determinado factor pronóstico.
2. Tamaños muestrales inadecuados: la patogenia de la sepsis es muy compleja, estando implicados múltiples mediadores cuya función no siempre conocemos bien y que puede variar evolutivamente.
3. Elección de la variable clínica a analizar: esta variable debe ser objetiva para evitar sesgos de interpretación. Por ello se escoge habitualmente la mortalidad hospitalaria si bien esto plantea dudas de si otras variables serían más adecuadas para poner de relieve la traducción clínica en la modificación de un gen determinado.
4. Inclusión en estudios de pacientes de diversas etnias.
5. Errores a la hora de determinar el polimorfismo genético como puede ocurrir al determinar los pacientes heterocigotos del SNP en posición -308 del TNF mediante enzima de restricción y electroforesis. Este caso puede deberse a una digestión incompleta por parte de la enzima de restricción, por lo que podría ser conveniente prolongar el tiempo de incubación con la enzima.

BIBLIOGRAFÍA

1. 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.
2. Salisbury BA, Pungliya M, Choi JY, Jiang R, Sun XJ, Stephens JC. SNP and haplotype variation in the human genome. *Mutation Research.* 2003;526:53-61.
3. Hubacek JA, Stuber F, Frohlich D, Book M, Wetegrovw S, Ritter M, et al. Gene variants of the bacterial/permeability increasing protein and lipopolysaccharide binding protein in sepsis patients: gender-specific genetic predisposition to sepsis. *Crit Care Med.* 2001;29:557-61.
4. 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.
5. Heesen M, Bloemeke B, Schade FU, Obertacke U, Majetschack M. The -260 CT promoter polymorphism of the lipopolysaccharide receptor CD14 and severe sepsis in trauma patients. *Intensive Care Med.* 2002;28:1161-3.
6. Mira JP, Cariou A, Grall F, Delclaux C, Losser MR, Heshmati F, et al. Association of TNF2, a TNF- α promoter polymorphism, with septic shock susceptibility and mortality. *JAMA.* 1999;282: 561-8.
7. 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.
8. Schroeder S, Reck M, Hoeft A, Stuber S. Analysis of two human leukocyte antigen-linked polymorphic heat shock protein 70 genes in patients with severe sepsis. *Crit Care Med.* 1999;27: 1265-70.
9. 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.
10. Majetschak M, Flohe S, Obertacke U, Obertacke U, Schoder J, Staubach K, et al. Relation of a TNF gene polymorphism to severe sepsis in trauma patients. *Ann Surg.* 1999;230:207-14.
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. Schluter B, Raufhake C, Erren M, Schotte H, Kipp F, Rust S, et al. Effect of the interleukin-6 promoter polymorphism (-174 G/C) on the incidence and outcome of sepsis. *Crit Care Med.* 2002;30:32-7.
13. Turner DM, Williams DM, Sankaran D, Lazarus M, Sinnott PJ, Hutchinson IV. An investigation of polymorphism in the interleukin-10 gene promoter. *Eur J Immunogenet.* 1997;24:1-8.
14. 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.
15. 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.