



Universidad de Valladolid

FACULTAD DE MEDICINA

**DEPARTAMENTO DE CIRUGÍA, OFTALMOLOGÍA,
OTORRINOLARINGOLOGÍA Y FISIOTERAPIA**

TESIS DOCTORAL:

**Polimorfismos en genes de la inmunidad innata
determinan la susceptibilidad y la mortalidad de la
sepsis grave y el shock séptico**

Presentada por Sandra Milena Gutiérrez Junco para optar al grado de Doctor
por la Universidad de Valladolid

Dirigida por:

Dr. Eduardo Tamayo Gómez

Dra. María Heredia Rodríguez

Dra. Esther Gómez Sánchez



Universidad de Valladolid

Impreso 2T

AUTORIZACIÓN DEL DIRECTOR DE TESIS

(Art. 2.1. c de la Normativa para la presentación y defensa de la Tesis Doctoral en la UVa)

Dr. Eduardo Tamayo Gómez con D.N.I. nº 13087744-L, Dra. María Heredia Rodríguez con D.N.I. nº 70879384-P y Dra. Esther Gómez Sánchez con D.N.I. nº 71021604-L, profesores del departamento de Cirugía, Oftalmología, Otorrinolaringología y Fisioterapia de la Facultad de Medicina de la Universidad de Valladolid, como Directores de la Tesis Doctoral titulada: "Polimorfismos en genes de la inmunidad innata determinan la susceptibilidad y la mortalidad de la sepsis grave y el shock séptico", presentada por Sandra Milena Gutiérrez Junco con N.I.E. nº Y1175978-W y pasaporte nº CC33378543, alumna del programa de Doctorado en "Investigación en Ciencias de la Salud" impartido por el departamento de Biología Celular, Histología y Farmacología, autorizan la presentación de la misma, considerando que reúne todos los requisitos para la presentación, lectura y defensa de la misma.

Valladolid, 9 de Octubre de 2014

Los Directores de la Tesis,

Fdo.: Dr. Eduardo Tamayo Gómez

Dra. María Heredia Rodríguez

Dra. Esther Gómez Sánchez

SR. PRESIDENTE DE LA COMISIÓN DE DOCTORADO

A mi familia

“The more we learn about the world, and the deeper our learning, the more conscious, specific, and articulate will be our knowledge of what we do not know; our knowledge of our ignorance. For this indeed, is the main source of our ignorance - the fact that our knowledge can be only finite, while our ignorance must necessarily be infinite.”

“Cuanto más aprendemos acerca del mundo, y cuanto más profundo es nuestro aprendizaje, más consciente, específico y articulado será nuestro conocimiento de lo que no sabemos; nuestro conocimiento de nuestra ignorancia – El hecho de que nuestro conocimiento solo puede ser finito, mientras que nuestra ignorancia debe ser necesariamente infinita.”

Karl Popper

AGRADECIMIENTOS:

Al doctor Eduardo Tamayo Gómez y a las doctoras María Heredia Rodríguez y Esther Gómez Sánchez, directores de esta tesis, por todo su apoyo y consejo durante estos cuatro años. Este trabajo no hubiera sido posible sin su guía.

Al doctor José Ignacio Gómez Herreras, jefe del servicio de Anestesiología y Reanimación por haberme brindado siempre su apoyo y amistad.

A la doctora María Ángeles Jiménez Sousa y al doctor Salvador Resino del Centro Nacional de Microbiología del Instituto de Salud Carlos III, por aportar su experiencia y conocimiento para la realización de este trabajo.

Al doctor Jesús Bermejo y a todo su equipo de la Unidad de Apoyo a la Investigación por haberme dado la oportunidad de trabajar con ellos.

Mi más sincero agradecimiento a mis compañeros del departamento de Anestesiología y Reanimación del Hospital Clínico Universitario de Valladolid por su aporte y amistad durante estos años de mi formación.

A mi familia y a Andrés, por estar a mi lado siempre.

A los pacientes y a sus familias por su colaboración y gentileza al participar en este estudio.

**Polimorfismos en genes de la inmunidad innata
determinan la susceptibilidad y la mortalidad de la
sepsis grave y el shock séptico**

ÍNDICE

Abreviaturas	23
Glosario	31
Resumen	37
1 INTRODUCCIÓN	41
1.1 Epidemiología	43
1.2 Definiciones y conceptos	44
1.2.1 Definición de sepsis	44
1.2.2 Criterios diagnósticos	46
1.2.3 Guías de práctica clínica	50
1.2.3.1 Reanimación inicial	50
1.2.3.2 Diagnóstico	51
1.2.3.3 Tratamiento	51
1.2.3.4 Control de la fuente de infección	52
1.2.3.5 Prevención de la infección	52
1.2.3.6 Tratamiento con fluidos en la sepsis grave	52
1.2.3.7 Vasopresores	52
1.2.3.8 Inotrópicos	54
1.2.3.9 Corticosteroides	54
1.2.3.10 Hemoderivados	55
1.2.3.11 Proteína C	55

1.2.3.12 SDRA inducido por sepsis y ventilación mecánica	55
1.2.3.13 Sedación, analgésicos y bloqueo neuromuscular	57
1.2.3.14 Control de la glucemia	57
1.2.3.15 Terapia de reemplazo renal y uso de bicarbonato	57
1.2.3.16 Prevención de la úlcera gastrointestinal y nutrición	57
1.2.3.17 Profilaxis de la trombosis venosa profunda	58
1.3 Fisiopatología	58
1.3.1 Mecanismos básicos	58
1.3.2 Genética	62
1.3.2.1 SNP relacionados con detección microbiana	63
1.3.2.2 SNP relacionados con vías de señalización intracelular	66
1.3.2.3 SNP relacionados con citoquinas proinflamatorias	67
1.3.2.4 SNP relacionados con citoquinas anti-inflamatorias	69
1.3.2.5 SNP relacionados con la función endotelial	70
2 JUSTIFICACIÓN	73
3 HIPÓTESIS DE TRABAJO	77
4 OBJETIVOS	81
4.1 Objetivo principal	83
4.2 Objetivos específicos	83
5 MATERIALES Y MÉTODOS	85

5.1 Financiación	87
5.2 Pacientes	87
5.3 Datos clínicos	87
5.4 Diagnóstico de sepsis	88
5.5 Selección de polimorfismos	88
5.6 Muestra	89
5.7 Genotipado	89
5.8 Variables de resultado	89
5.9 Análisis estadístico	90
6 RESULTADOS	93
6.1 Características de la población de estudio	95
6.2 Distribución de las frecuencias genotípicas	98
6.3 Genotipos y susceptibilidad a la infección	101
6.4 Genotipos y mortalidad	103
6.4.1 Mortalidad temprana	103
6.4.2 Mortalidad tardía	105
6.5 Análisis de supervivencia	107
6.6 Modelos pronósticos preoperatorios de susceptibilidad a la infección	109
6.6.1 Modelo pronóstico para el desarrollo de sepsis	109
6.6.2 Modelo pronóstico para el desarrollo de shock séptico	110

6.6.3 Modelo pronóstico de sepsis en cirugía abdominal	110
6.6.4 Modelo pronóstico de sepsis en cirugía cardíaca	111
6.6.5 Modelo pronóstico de sepsis por neumonía	112
6.6.6 Modelo pronóstico de sepsis por peritonitis en cirugía abdominal	112
6.7 Modelos de predicción de mortalidad temprana	114
6.7.1 Modelo de predicción de mortalidad temprana por sepsis	114
6.7.2 Modelo de predicción de mortalidad temprana por shock séptico	114
6.7.3 Modelo de predicción de mortalidad temprana en cirugía cardíaca	115
6.7.4 Modelo de predicción de mortalidad temprana en cirugía abdominal	116
6.7.5 Modelo de predicción de mortalidad temprana en sepsis por neumonía ..	117
6.7.6 Modelo de predicción de mortalidad temprana en sepsis por peritonitis .	119
6.8 Modelos de predicción de mortalidad tardía	120
6.8.1 Modelo de predicción de mortalidad tardía por sepsis	120
6.8.2 Modelo de predicción de mortalidad tardía por shock séptico	120
6.8.3 Modelo de predicción de mortalidad tardía en cirugía cardíaca	121
6.8.4 Modelo de predicción de mortalidad tardía en cirugía abdominal	122
6.8.5 Modelo de predicción de mortalidad tardía en sepsis por neumonía	123
6.8.6 Modelo de predicción de mortalidad tardía en sepsis por peritonitis	123
7 DISCUSIÓN	125
7.1 Características de la población	127
7.2 Microbiología	127

7.3 Rol de la inmunidad innata en la patogénesis de la sepsis	128
7.4 Susceptibilidad	129
7.5 Mortalidad	130
7.6 Limitaciones	133
7.7 Futuros estudios	133
8 CONCLUSIONES	135
9 REFERENCIAS	139

ABREVIATURAS

ACCP: *American College of Chest Physicians*, Colegio Americano de Médicos de Tórax.

ACTH: *Adrenocorticotrophic hormone*, hormona adrenocorticotropa.

ADRB2: *Beta-2 adrenergic receptor*, receptor adrenérgico beta 2.

AGTRAP: *Type-1 angiotensin II receptor-associated protein*, proteína asociada con el receptor tipo 1 de la angiotensina 2.

APACHE II: *Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II*, sistema de puntuación para la evaluación de la salud con datos fisiológicos agudos y crónicos II.

TTPa: Tiempo de tromboplastina parcial activado.

ATS: *American Thoracic Society*, Sociedad Torácica Americana.

AUC: *Area under the curve*, área bajo la curva ROC.

CD 14: *Cluster of differentiation 14*, clúster de diferenciación 14.

CNV: *Copy number variation*, variación en el número de copias.

CRP: *C-reactive protein*, proteína C reactiva.

DAMP: *Damage associated molecular patterns*, patrones moleculares asociados a daño.

DE: Desviación estándar.

DNA: *Deoxyribonucleic acid*, ácido desoxirribonucleico.

EDTA: *Ethylenediaminetetraacetic acid*, ácido etilendiaminotetraacético.

ESICM: *European Society of Intensive Care Medicine*, Sociedad Europea de Medicina Intensiva.

FC: Fosfocolina.

FCGR2A: *Low affinity immunoglobulin gamma Fc region receptor II-a*, fragmento Fc del receptor de baja afinidad IIa de IgG.

FiO₂: Fracción inspirada de oxígeno.

FT: Factor tisular.

GRADE: *Grading of Recommendations Assessment Development and Evaluation*, clasificación de la evaluación, desarrollo y valoración de las recomendaciones.

HLA: *Human Leukocyte Antigen*, antígeno leucocitario humano.

HMGB1: *High-mobility group protein B1*, proteína del grupo 1 de alta movilidad.

HR: *Hazard ratio*, razón de riesgo.

HSP70: *70 kilodalton heat shock proteins*, proteínas de shock térmico de 70 KDa.

HWE: *Hardy–Weinberg equilibrium*, equilibrio de Hardy Weinberg.

IC: Intervalo de confianza.

ICAM: *Intercellular adhesion molecules*, molécula de adhesión intercelular.

IFN: Interferón.

IKK: *IκB kinase*, cinasa IκB.

IκB: *Inhibitor of NF-κB*, inhibidor del NF-κB.

IL: Interleucina.

IL1-Ra: *Interleukin-1 receptor antagonist*, antagonista del receptor de la interleucina 1.

INR: *International Normalized Ratio*, razón internacional normalizada.

IP3K: *Phosphoinositide 3-Kinases*, fosfoinositol 3 cinasa.

IRAK1: *Interleukin-1 receptor-associated kinase 1*, cinasa asociada al receptor de la interleucina 1.

LNPEP: *Leucyl/cystinyl aminopeptidase*, leucil / cistinil aminopeptidasa.

LPS: Lipopolisacárido.

MAC: *Membrane attack complex*, complejo de ataque a membrana.

MBL2: *Mannose-binding lectin 2*, lectina de unión a manosa 2.

NF- κ B: *Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*, factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas

NFKBIA: *Nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells inhibitor, alpha*, inhibidor alfa del factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas.

NOD2: *Nucleotide-binding oligomerization domain-containing protein 2*, dominio de oligomerización por unión de nucleótidos que contiene la proteína 2.

NO: *Nitric oxide*, óxido nítrico.

OR: *Odds ratio*, razón de oportunidades.

PAF: *Platelet-activating factor*, factor activador de plaquetas.

PAMP: *Pathogen-associated molecular patterns*, patrones moleculares asociados a patógenos.

PAM: Presión arterial media.

PAS: Presión arterial sistólica.

PaO₂: Presión arterial parcial de oxígeno.

PCP: Presión capilar pulmonar.

PEEP: *Positive end-expiratory pressure*, presión positiva al final de la espiración.

PG: Peptidoglicano.

PPO: Probabilidad preoperatoria.

PRR: *Pattern recognition receptors*, receptores reconocedores de patrones.

PVC: Presión venosa central.

RIC: Rango intercuartílico.

RIG-I: *Retinoic acid-inducible gene 1*, gen inducible por el ácido retinoico - 1.

ROC: *Receiver operating characteristic*, curva de características del receptor-operador.

SCCM: *Society of Critical Care Medicine*, Sociedad de Medicina de Cuidado Crítico.

SDMO: Síndrome de disfunción multiorgánica.

SDRA: Síndrome de dificultad respiratoria aguda.

SIS: *Surgical Infection Society*, Sociedad de Infección Quirúrgica.

SOFA: *Sequential Organ Failure Assessment*, evaluación secuencial del fallo orgánico.

SO_{2v}: Saturación de oxígeno venosa mixta.

SO_{2vc}: Saturación de oxígeno venosa central.

SRIS: Síndrome de respuesta inflamatoria sistémica.

SSC: *Surviving Sepsis Campaign*, Campaña sobreviviendo a la sepsis.

SNP: *Single Nucleotide Polymorphism*, polimorfismo genético de un solo nucleótido.

sTNF-R: *Soluble tumor necrosis factor receptor*, receptor soluble del TNF.

TFPI: *Tissue factor pathway inhibitor*, inhibidor de la vía del factor tisular.

TIRAP: *Toll-interleukin 1 receptor (TIR) domain containing adaptor protein*, proteína adaptadora que contiene el dominio TIR.

TNF: *Tumor necrosis factor*, factor de necrosis tumoral.

TLR: *Toll-like receptors*, receptor tipo Toll.

TONSL: *Tonsoku-like, DNA repair protein*, proteína reparadora del DNA tonsoku-like.

TRAF6: *TNF receptor-associated factor 6*, factor 6 asociado al receptor del TNF.

UCI: Unidad de cuidados intensivos.

Polimorfismos en genes de la inmunidad innata determinan la susceptibilidad y la mortalidad de la sepsis grave y el shock séptico.

VCAM: *Vascular cell adhesion protein*, molécula de adhesión vascular.

VNTR: *Variable number tandem repeat*, número variable de repeticiones en tándem.

GLOSARIO

Alelo: Cada una de las versiones alternativas de un gen en un locus determinado. Los diferentes alelos producen variaciones en los rasgos heredados. Cada individuo tiene dos alelos de cada gen, un alelo heredado del padre y el otro de la madre.

DNA: Ácido desoxirribonucleico. Polímero formado por la unión covalente de nucleótidos. Un nucleótido está conformado por una base nitrogenada (que puede ser adenina (A), timina (T), guanina (G) o citosina (C)), un azúcar (2 - desoxirribosa) y un fosfato. La disposición secuencial de las cuatro bases a lo largo de la cadena es la que codifica la información genética. El DNA se presenta como una doble cadena de nucleótidos, en la que las dos hebras están unidas entre sí por puentes de hidrógeno. El modelo de estructura en doble hélice fue propuesto en 1953 por James Watson y Francis Crick al analizar los parámetros de hélice obtenidos por difracción de rayos X.

Aditivo: Patrón de herencia en el que se asume que cada copia del alelo variante modifica el riesgo en una cantidad aditiva (en escala logit); por tanto, los homocigotos para el alelo variante tienen el doble de riesgo que los heterocigotos.

Cromosoma: Estructura física en la que se encuentra organizado el DNA. Un cromosoma corresponde a una molécula de DNA compactado, organizada en genes y mantenida por proteínas llamadas histonas.

Dominante: Patrón de herencia en el que se asume que basta con tener un alelo variante para conferir riesgo. Es decir, supone que una única copia del alelo variante es suficiente para modificar el riesgo y que ser portador de dos copias lo modifica en igual magnitud; por tanto, heterocigotos y homocigotos del alelo variante tienen el mismo riesgo. Se puede comparar la combinación de estos dos genotipos respecto a los homocigotos del alelo más frecuente.

Fenotipo: Características físicas y/o bioquímicas observables de la expresión de uno o varios genes. Conjunto de rasgos clínicos de un individuo con un genotipo determinado.

Gen: Unidad básica de la herencia que consiste en un segmento de DNA que codifica una proteína, segmento de proteína o una molécula de ARN específicos con una característica o función determinada.

Genoma: Conjunto de los genes de un individuo o una especie contenida en un juego haploide de cromosomas.

Genotipo: Constitución genética de un organismo. Puede referirse al conjunto de genes (genoma) o al grupo específico de alelos heredados en un locus. El genotipo, junto con factores ambientales que actúan sobre el DNA, determina las características del organismo, es decir, su fenotipo.

Genotipado: Es la caracterización genética o proceso de determinación de los alelos específicos heredados por un individuo. Los genotipos de un SNP, es decir la combinación de sus dos correspondientes alelos (dos homocigotos A/A y B/B y un heterocigoto A/B o B/A, donde A y B puede ser cualquiera de las 4 bases A, C, G o T) se obtienen a partir de las intensidades de la imagen escaneada de un experimento de microarrays.

Heterocigoto: Individuo que tiene dos alelos diferentes en un locus, uno en cada cromosoma de una misma pareja de cromosomas.

Homocigoto: Individuo que tiene dos alelos idénticos en un mismo locus determinado, uno en cada cromosoma de una misma pareja de cromosomas.

Locus (loci en plural): Posición o localización física de un gen específico en un cromosoma.

Nucleótido: Unidad monomérica de los ácidos nucleicos. En el DNA se encuentran los desoxirribonucleótidos, que están formados por la unión covalente de una base nitrogenada (adenina, guanina, timina o citosina), un grupo fosfato y un azúcar (2 - desoxirribosa). En el caso del RNA el azúcar es una ribosa.

Polimorfismos: Son todas aquellas variaciones en la secuencia del DNA que ocurren con una frecuencia de al menos 1 % en la población general.

Recesivo: Patrón de herencia en el que se asume que es necesario tener dos copias del alelo variante para modificar el riesgo; por tanto, heterocigotos y homocigotos del alelo más frecuente tienen el mismo riesgo. Se compara la combinación de ellos respecto a los homocigotos del alelo variante.

SNP: Son polimorfismos de un cambio en un nucleótido en una posición concreta del genoma que afecta a una sola base (adenina (A), timina (T), citosina (C) o guanina (G)).

Sobredominante: Modelo de herencia en el que se comparan los dos genotipos homocigotos contra el heterocigoto. Este modelo también se conoce con el nombre de heterocigosidad.

RESUMEN

Propósito:

Analizar la influencia de polimorfismos genéticos de un solo nucleótido (SNP) determinantes de la inmunidad innata en la aparición de sepsis grave y shock séptico, así como en su mortalidad después de una cirugía mayor en la población europea.

Métodos:

Se realizó un estudio de genes candidatos en casos y controles. Se compararon 248 pacientes sépticos (sepsis grave o shock séptico) y 264 pacientes con SRIS, sin evidencia de infección, que se sometieron a cirugía cardíaca o abdominal en el Hospital Clínico Universitario de Valladolid (España), entre diciembre de 2008 y junio de 2012. Se realizó además un análisis de riesgo de mortalidad y curvas de supervivencia en los pacientes sépticos.

Resultados:

Variantes genéticas en genes de la IL-1B (rs16944), proteína C reactiva (CRP-rs2794521) e IL-10 (rs1800896) determinaron una mayor susceptibilidad a la sepsis grave y el shock séptico. En estos pacientes, las variantes de los polimorfismos de la IL-6 (rs1800795) y del NFKBIA (rs2233406) determinaron una mayor mortalidad temprana; mientras que la variante del ADRB2 (rs1042717) determinó una menor mortalidad. De forma tardía, las variantes de la MBL2 (rs1800450) y de la IL-10 (rs1800872) resultaron protectoras.

De los 248 pacientes con sepsis, 116 (46,8 %) fallecieron, con una media de supervivencia de 57 días (IC 95 % = 52,9 - 62,2). Únicamente las variantes de los polimorfismos del ADRB2 e IL-10 (rs1800872) tuvieron relación con la supervivencia.

Conclusión:

Polimorfismos funcionales en genes de la inmunidad innata relacionados con mecanismos de detección microbiana, señalización, citoquinas pro y antiinflamatorias y función endotelial predisponen al desarrollo de sepsis grave y pueden llegar a ser parte de un modelo de riesgo, que tenga como propósito predecir subgrupos de pacientes con mejor o peor pronóstico en el shock séptico y sepsis grave.

Polimorfismos en genes de la inmunidad innata determinan la susceptibilidad y la mortalidad de la sepsis grave y el shock séptico.

Palabras clave:

SNP, gen candidato, sepsis, shock séptico, neumonía, supervivencia, inmunidad innata.

1 INTRODUCCIÓN

1.1 Epidemiología

La sepsis es un grave problema de salud pública que conlleva un elevado costo en términos de mortalidad, morbilidad y recursos sanitarios. Es la primera causa de muerte en las unidades de cuidados intensivos, a pesar del uso de antibióticos modernos y terapias de resucitación [1].

Múltiples estudios han reportado una alta incidencia de sepsis en la población general. En un estudio realizado en la Comunidad de Madrid durante el año 2003, la incidencia fue de 367 casos por cada 100.000 habitantes por año. La incidencia de sepsis grave se estimó en 104 por 100.000 habitantes por año mientras que la de shock séptico fue de 31 casos por 100.000 habitantes por año [2]. En un estudio multicéntrico llevado a cabo en el año 2002, en 13 hospitales de las comunidades autónomas de Asturias y Castilla y León, la incidencia acumulada estimada de sepsis grave para la población fue de 25 casos tratados en unidades de cuidados intensivos por 100.000 habitantes por año [3]. En un estudio francés, la incidencia de sepsis grave fue de 94 casos por 100.000 habitantes [4], y en uno realizado en los Estados Unidos la incidencia pasó de 66,8 hospitalizaciones x 100.000 habitantes en 1993 a 132 x 100.000 en 2003 [5].

En cuanto a la mortalidad, en el estudio realizado en la Comunidad de Madrid, la muerte por sepsis, sepsis grave y shock séptico fue de 12.8 %, 20.7 % y 45.7 % respectivamente [2]. En un estudio multicéntrico español la mortalidad intrahospitalaria de los pacientes con sepsis grave fue de 54.3 % y la mortalidad temprana (en las primeras 48 horas) del 14.8 % [3]. A nivel europeo, en el año 2006, el grupo de Vincent y colaboradores analizaron una muestra de 3147 pacientes sépticos representativos de 13 países encontrando una mortalidad global del 18.5 % en unidades de cuidados intensivos y del 24.1 % en el ámbito intrahospitalario [6].

En un estudio del año 2012 que analizó los datos de 25.537 pacientes con sepsis grave y shock séptico en Estados Unidos y Europa, se encontró una mortalidad global del 32 %. Los pacientes que ingresaron en UCI en Europa tuvieron con mayor frecuencia fallo multiorgánico y una mortalidad 10 % mayor, diferencia que desapareció al ajustarse por la gravedad de la enfermedad [7].

En los Estados Unidos, durante la última década, la tasa de mortalidad intrahospitalaria de los pacientes sépticos apenas mejoró del 45.8 % al 37.8 %, mientras que la mortalidad absoluta se incrementó de 30.3 a 40.7 muertes por 100.000 habitantes [5].

El coste de cada ingreso por sepsis grave se ha calculado en nuestro medio en unos 10.000 euros. El coste anual de la atención a los pacientes con sepsis grave en la Comunidad de Madrid se ha calculado en 70 millones de euros [8]. En los Estados Unidos el coste de cada caso de sepsis grave puede ascender a 22.100 dólares y representar hasta 16,7 billones de dólares en todo el país [9]. Por todo lo anteriormente expuesto se entiende la necesidad de continuar la búsqueda de nuevas alternativas terapéuticas eficaces, reproducibles y seguras, así como de pruebas diagnósticas que permitan una identificación temprana de la sepsis e iniciar un tratamiento precoz, pilar fundamental para disminuir la mortalidad por sepsis.

1.2 Definiciones y conceptos

1.2.1 Definición de sepsis

La palabra sepsis viene del griego σήψις (*sípsis*) que significa putrefacción [10]. Desde Galeno y Celso se describieron los signos clásicos de la inflamación: vasodilatación periférica (rubor), fiebre (calor), dolor, aumento de la permeabilidad capilar (tumor) y disfunción orgánica (*functio laesa*) [11].

En 1991 el American College of Chest Physicians y la Society of Critical Care Medicine (ACCP y SCCM) consensuaron la definición de sepsis como el desarrollo de un síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS) secundario a una infección [12]. Así mismo se definió la gravedad de la sepsis de la siguiente forma: sepsis grave, shock séptico y síndrome de disfunción multiorgánica (SDMO). Estas definiciones se reevaluaron en una conferencia internacional en el año 2001 (International Sepsis Definitions Conference), donde se propuso un sistema de categorización de riesgo denominado sistema "PIRO", derivado de su acrónimo en inglés "Predisposition", "Insult/Infection", "Response" y "Organ dysfunction". Este sistema divide los componentes del proceso infeccioso en factores predisponentes a la infección: historia previa, factores

genéticos, biológicos y culturales; infección: tipo de microorganismos y fuente de infección; respuesta del huésped: características fisiológicas, bioquímicas y biológicas; y por último el desarrollo de disfunción de órganos. De esta forma es posible categorizar y valorar los distintos predictores independientes de pronóstico para una respuesta séptica [13]. El sistema PIRO es de momento sólo un marco conceptual para la investigación futura sin que se haya desarrollado una aplicación clínica. En la práctica habitual se continúan utilizando las definiciones vigentes desde el año 1991, que están incluidas en las últimas guías internacionales de tratamiento de la sepsis grave y del shock séptico actualizadas en el año 2012 [14].

La sepsis se define como la presencia de una infección junto con manifestaciones sistémicas de inflamación. La sepsis grave se define como sepsis sumada a disfunción orgánica inducida por sepsis o hipoperfusión tisular (hipotensión inducida por la infección, lactato elevado u oliguria). La hipotensión inducida por sepsis se define como una presión arterial sistólica (PAS) < 90 mmHg, una disminución > 40 mmHg o menor de dos desviaciones estándar por debajo de lo normal para la edad; o bien una presión arterial media (PAM) < 70 mmHg, siempre en ausencia de otras causas de hipotensión. Cuando esta hipotensión persiste a pesar de la reanimación adecuada con fluidos se dice que el paciente se encuentra en shock séptico [13, 14].

Algunos grupos [11] sugieren que la anterior definición conlleva un problema de baja especificidad, ya que la respuesta inflamatoria a otros procesos estériles tales como quemaduras, traumatismo, pancreatitis, autoinmunidad o rechazo a trasplante, entre otros, puede no ser distinguible de la respuesta inflamatoria a la infección, tanto desde el punto de vista clínico como molecular (figura 1). Esta corriente de pensamiento sugiere que dentro de la definición de sepsis, se incluya la presencia de disfunción orgánica; es decir, que la sepsis se defina como la respuesta inflamatoria a la infección junto con la presencia de disfunción de al menos un órgano [11]. En el simposio Merinoff, el Foro Internacional de Sepsis escribió: “la sepsis es una condición potencialmente fatal que surge cuando la respuesta del cuerpo a la infección daña sus propios tejidos y órganos”. Esta es la más reciente percepción de la sepsis [15].

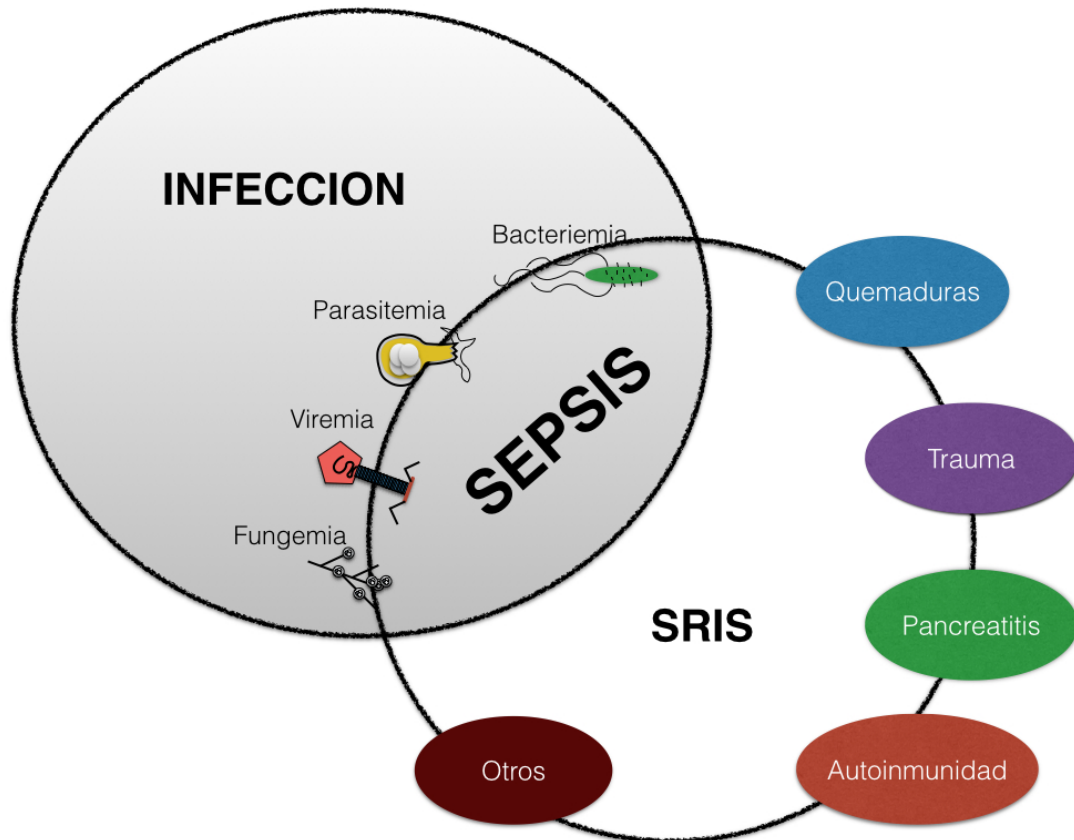


Figura 1. Espectro entre inflamación, infección y sepsis (adaptado de Bone et al, [16]).

1.2.2 Criterios diagnósticos [14]

Sepsis

Infección documentada o sospechada, y algunos de los siguientes factores:

Variables generales:

- Fiebre ($> 38,3^{\circ}\text{C}$) o hipotermia ($< 36^{\circ}\text{C}$).
- Frecuencia cardíaca $> 90/\text{min}$ o más de dos desviaciones estándar por encima del valor normal según la edad.
- PAS < 90 mmHg, disminución > 40 mmHg en adultos, o cuando es inferior a dos desviaciones estándar de lo normal para la edad; o bien una PAM < 70 mmHg.
- Taquipnea.

- Estado mental alterado.
- Edema importante o equilibrio positivo de fluidos (> 20 mL/kg durante más de 24 h).
- En el paciente no diabético, hiperglucemia (glucosa en plasma > 140 mg/dL o 7,7 mmol/l).

Variables inflamatorias:

- Leucocitosis (> 12 000), leucopenia (< 4 000) o recuento de leucocitos normal con más del 10 % de formas inmaduras.
- Proteína C reactiva en plasma superior a dos desviaciones estándar por encima del valor normal.
- Procalcitonina en plasma superior a dos desviaciones estándar por encima del valor normal.

Variables de disfunción orgánica:

- Hipoxemia arterial ($\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < 300$).
- Oliguria aguda (diuresis < 0,5 ml/kg/h durante al menos 2 horas a pesar de una adecuada reanimación con fluidos).
- Aumento de creatinina > 0,5mg/dL o 44,2 $\mu\text{mol/L}$.
- Anomalías en la coagulación (INR > 1,5 o TTPa > 60 s)
- Íleo (ausencia de borborigmos)
- Trombocitopenia (recuento de plaquetas < 100 000 μL)
- Hiperbilirrubinemia (bilirrubina total en plasma > 4mg/dL o 70 $\mu\text{mol/L}$)

Variables de perfusión tisular:

- Hiperlactatemia (> 1 mmol/L)

- Reducción en llenado capilar o moteado.

Sepsis grave

La sepsis grave se define como hipoperfusión tisular o disfunción orgánica inducida por sepsis (cualquiera de los siguientes casos debido a la infección).

- Hipotensión inducida por sepsis.
- Lactato por encima de los límites máximos normales de laboratorio.
- Diuresis $< 0,5$ ml/kg/h durante más de 2 h a pesar de una reanimación adecuada con fluidos.
- Lesión pulmonar aguda con $\text{PaO}_2/\text{FIO}_2 < 250$ con ausencia de neumonía como foco de infección.
- Lesión pulmonar aguda con $\text{PaO}_2/\text{FIO}_2 < 200$ por neumonía como foco de infección.
- Creatinina $> 2,0$ mg/dL (176,8 $\mu\text{mol/L}$).
- Bilirrubina > 2 mg/dL (34,2 $\mu\text{mol/L}$).
- Recuento de plaquetas $< 100\ 000$ μL .
- Coagulopatía (INR > 1.5).

Shock séptico

- Hipotensión inducida por sepsis a pesar de una adecuada resucitación con fluidos (30 mL/kg de cristaloides o su equivalente en albumina).

Síndrome de disfunción multiorgánica

- Pérdida de la capacidad del organismo para mantener la homeostasis. Se trata del lado más grave del espectro del SRIS y la sepsis. No hay criterios estrictos

para definirlo, se considera anomalías progresivas órgano específicas de los siguientes parámetros:

PaO₂/FiO₂

Recuento de plaquetas

Bilirrubina sérica

Creatinina sérica (o gasto urinario)

Escala de Glasgow

Presión arterial

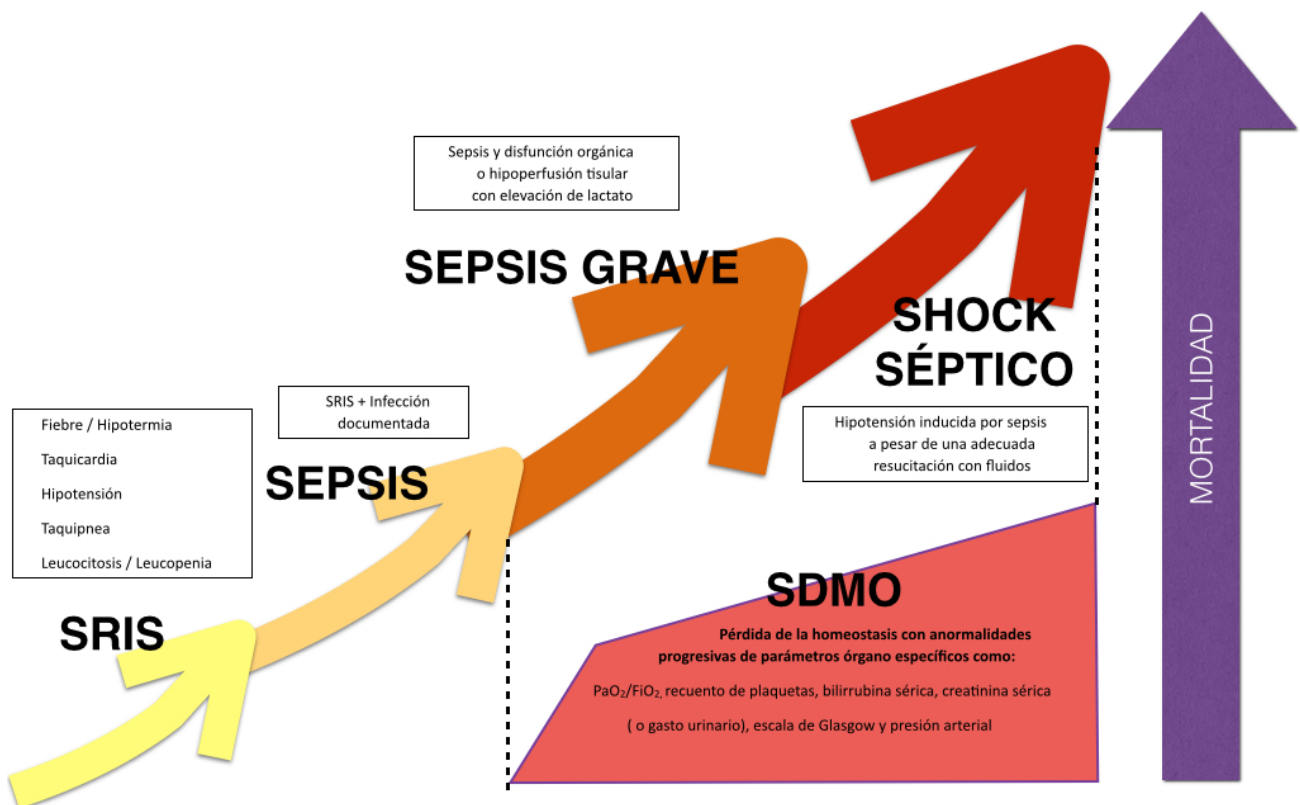


Figura 2. Espectro de gravedad de la sepsis, el shock séptico y el SDMO.

1.2.3 Guías de práctica clínica

En el 2002 se inició la campaña sobreviviendo a la sepsis (SSC, por sus siglas en inglés) como una iniciativa global que reúne esfuerzos de varias organizaciones profesionales con el objetivo común de mejorar el tratamiento de la sepsis y disminuir la alta tasa de mortalidad. En esta campaña participan tres sociedades científicas principales, la European Society of Intensive Care Medicine, el International Sepsis Forum y la Society of Critical Care Medicine. En el año 2004 se publicaron las pautas de actuación clínica de la SSC para el manejo del paciente con sepsis grave y shock séptico con el respaldo de 11 sociedades científicas. Esta guía se revisó en el año 2012 [14] por un comité internacional de expertos y se adhirió a los principios de la medicina basada en la evidencia utilizando el sistema GRADE (Grading of Recommendations Assessment, Development and Evaluation) para determinar la intensidad de las recomendaciones que dicta.

1.2.3.1 Reanimación inicial

La base del tratamiento para la inestabilidad hemodinámica es la corrección de la hipotensión y la restauración de un flujo sanguíneo regional adecuado con el objetivo de preservar la perfusión tisular. Es importante combinar criterios de valoración, tales como presión arterial con evaluación de perfusión regional y global mediante parámetros como concentración de lactato en sangre, perfusión cutánea, estado mental y gasto urinario. Se recomienda un protocolo cuantitativo de reanimación con líquidos [17], que debe iniciarse tan pronto como se identifique la hipoperfusión (lactato mayor o igual a 4 mmol/L o hipotensión) y cuyos objetivos durante las primeras 6 horas son:

- a. PVC 8 – 12 mmHg. En pacientes ventilados mecánicamente o aquellos con distensibilidad ventricular reducida se debe lograr un objetivo más alto de PVC de 12 a 15 mmHg [18].
- b. PAM mayor o igual a 65 mmHg [19].
- c. Diuresis mayor o igual a 0,5 ml/Kg/hr.

- d. Saturación de oxígeno venosa central (vena cava superior, SO_{2vc}) o saturación de oxígeno venosa mixta (SO_{2v}) de 70 % o 65 %, respectivamente [20].
- e. Dirigir la reanimación para normalizar el lactato como marcador de hipoperfusión tisular [21].

1.2.3.2 Diagnóstico

Es importante distinguir rápidamente la sepsis del SRIS, ya que en caso de existir una infección ésta debe tratarse lo antes posible. Se deben obtener cultivos clínicamente apropiados idealmente antes de iniciar tratamiento antibiótico, al menos dos conjuntos de hemocultivos en frascos aerobios y anaerobios, con al menos uno recogido por vía percutánea y otro recogido a través de cada dispositivo de acceso vascular de más de 48 horas de colocación [22, 23].

Se recomienda además el uso de la prueba de 1,3 beta-D-glucano o de anticuerpos manano y antimanano en función de su disponibilidad con el fin de detectar la candidiasis invasiva en el diagnóstico diferencial de la infección [24, 25]. Así mismo se deben realizar estudios de imagen para constatar el posible foco de la infección.

1.2.3.3 Tratamiento

Se deben administrar antibióticos intravenosos efectivos dentro de la primera hora [26]. Este tratamiento debe incluir uno o más antibióticos que hayan demostrado actividad contra todos los patógenos probables (bacteriano, fúngico o vírico) y que penetren en concentraciones adecuadas en los tejidos que se supone son la fuente de la sepsis. El tratamiento se debe reevaluar diariamente. Además, en el caso de los pacientes neutropénicos o con patógenos resistentes a fármacos (p.ej. *Acinetobacter* y *Pseudomona spp*) se recomienda tratamiento empírico combinado que no se debe mantener por un período superior a 3 - 5 días y se debe reducir en cuanto se tenga el perfil de sensibilidad. La duración habitual de tratamiento es de 7 - 10 días, pudiéndose alargar en pacientes con respuesta clínica lenta, focos de infección no drenados, bacteriemia por *S. aureus*, infecciones fúngicas, víricas o neutropenia [27].

El uso de niveles bajos de procalcitonina o biomarcadores similares pueden ayudar al médico en la interrupción de antibióticos empíricos en pacientes que parecen estar sépticos, pero sin evidencia posterior de infección [28].

1.2.3.4 Control de la fuente de infección

Se debe hacer un diagnóstico anatómico específico de la infección y si es posible, intervenir en las primeras 12 horas [29]. Una excepción sería la necrosis peripancreática donde la intervención definitiva debería posponerse hasta que los tejidos viables y no viables estén bien demarcados [30]. Se prefiere además el procedimiento efectivo que produzca el menor traumatismo fisiológico. Una vez que se garantice un nuevo acceso vascular, es recomendable retirar aquellos dispositivos intravasculares que puedan ser reservorio de infección.

1.2.3.5 Prevención de la infección

Para disminuir la incidencia de neumonía asociada al respirador se recomienda el uso de gluconato de clorhexidina oral como método de descontaminación orofaríngea [31].

1.2.3.6 Tratamiento con fluidos en la sepsis grave

Los cristaloides son la opción inicial para la reanimación con fluidos. Se debe evitar el uso de hidroxietilalmidón [32, 33]. Cuando los pacientes requieren cantidades importantes de cristaloides, se recomienda la albúmina [34]. Se recomienda una sobrecarga líquida inicial con 30 ml/kg de cristaloides o su equivalente en albúmina. Se recomienda continuar la administración de fluidos, siempre que exista una mejora hemodinámica basada en variables dinámicas (p.ej. variación de la presión diferencial arterial o variación del volumen sistólico) o estáticas (p.ej. presión arterial o frecuencia cardíaca) [35].

1.2.3.7 Vasopresores

Una reanimación adecuada con fluidos es un aspecto fundamental en el tratamiento hemodinámico de pacientes con shock séptico y lo ideal es conseguirla antes de utilizar

vasopresores e inótrpos; sin embargo, la utilización temprana de vasopresores en pacientes con shock séptico es habitualmente necesaria. Cuando esto ocurre, se debe tratar de interrumpir los vasopresores mediante una reanimación con fluidos adecuada.

El tratamiento vasopresor debe buscar una PAM de al menos 65 mmHg [36]. Algunos pacientes pueden requerir presiones arteriales medias más elevadas como por ejemplo aquellos con aterosclerosis o hipertensión arterial previa. A todos los pacientes que requieran vasopresores se les debe colocar un catéter arterial tan pronto como sea posible con el fin de obtener una información inmediata y reproducible sobre la presión arterial en la que basar las decisiones del tratamiento.

La noradrenalina es el vasopresor de primera elección [37 – 49]. Se puede añadir adrenalina o utilizarse en su remplazo para mantener una presión arterial adecuada. La vasopresina a dosis bajas (hasta 0,03 U/min) puede añadirse a la norepinefrina con el fin de obtener una presión arterial adecuada o disminuir las dosis de norepinefrina, pero no se recomienda como vasopresor inicial único para el tratamiento de la hipotensión inducida por sepsis [50]. Dosis más altas de vasopresina deben reservarse para tratamientos de rescate cuando no se haya podido lograr una PAM adecuada con otros agentes vasopresores.

El uso de dopamina como agente vasopresor alternativo a noradrenalina se limita a pacientes seleccionados con bajo riesgo de taquiarritmias. La noradrenalina es un vasopresor más potente que la dopamina y puede ser más efectiva para corregir la hipotensión en los pacientes con shock séptico, además de ser menos arritmogénica. La información obtenida de cinco estudios aleatorizados que compararon a la noradrenalina con la dopamina mostró un riesgo relativo de mortalidad en shock séptico de 0,91 (IC 95 % = 0,84 – 1,00) a favor de la noradrenalina [51]. Además, un estudio aleatorizado que comparó el uso de dopamina a dosis bajas contra placebo, no demostró diferencia en los niveles de creatinina, necesidad de terapia de remplazo renal, gasto urinario, ni en el tiempo para recuperar la función renal, así como tampoco hubo diferencias en la tasa de supervivencia ni en la estancia hospitalaria. Por

lo tanto, el uso de dopamina como protector renal se encuentra actualmente desfasado [52, 53].

Adicionalmente no se recomienda el uso de fenilefrina en el tratamiento del shock séptico excepto en las siguientes circunstancias: (a) noradrenalina asociada con arritmias graves, (b) gasto cardíaco alto y presión arterial continuamente baja, o (c) como tratamiento de rescate cuando la combinación de fármacos inotrópicos/vasopresores y vasopresina no logra el objetivo de la PAM [54].

1.2.3.8 Inotrópicos

La dobutamina es el inotrópico de primera elección para pacientes con gasto cardíaco bajo en presencia de presión de llenado ventricular izquierdo (o evaluación clínica de reanimación con fluidos adecuada) y PAM adecuada. Se recomienda añadir al vasopresor un tratamiento de prueba con perfusión de dobutamina de hasta 20 µg/kg/min en presencia de: (a) disfunción miocárdica, como lo indican las presiones cardíacas de llenado elevadas y bajo gasto cardíaco, o (b) signos continuos de hipoperfusión, a pesar de lograr un volumen intravascular adecuado y PAM adecuada [55].

1.2.3.9 Corticosteroides

Se recomienda no utilizar hidrocortisona intravenosa en el tratamiento del shock séptico si la reanimación con fluidos adecuada y el tratamiento con vasopresores son capaces de restaurar la estabilidad hemodinámica. De no poder lograr este objetivo, se sugiere administrar hidrocortisona intravenosa en una dosis de 200 mg al día [56].

Se sugiere no utilizar la prueba de estimulación ACTH para identificar el subconjunto de adultos con shock séptico que deberían recibir hidrocortisona. En los pacientes tratados, se ajusta la dosis de hidrocortisona cuando ya no se necesitan los vasopresores. Tampoco se recomienda administrar corticosteroides para el tratamiento de la sepsis en ausencia de shock [57].

1.2.3.10 Hemoderivados

Una vez resuelta la hipoperfusión tisular se recomienda la utilización de hemoderivados para lograr un objetivo de concentración de hemoglobina de 7,0 a 9,0 g/dl en adultos [58]. No se recomienda la eritropoyetina ni el uso de plasma fresco congelado (si no hay hemorragia activa o el paciente requiere de cirugía). La antitrombina tampoco se recomienda [59]. El uso de plaquetas está indicado cuando su recuento sea menor de 10.000 o menor de 20.000 si se considera que el paciente está en riesgo de hemorragia. Si hay sangrado activo o en contexto de cirugía, se recomiendan niveles plaquetarios de al menos 50.000 [60].

1.2.3.11 Proteína C

En el año 2001 el estudio PROWESS [61] mostró una reducción de la mortalidad de la sepsis con el uso de la proteína C lo que motivó su inclusión en las guías de tratamiento del año 2004. Sin embargo estudios posteriores mostraron su ineficacia en la sepsis leve y en niños, lo que restringió su uso a pacientes con sepsis grave (APACHE >25 o SDMO); ello llevó a la realización de un segundo estudio (PROWESS SHOCK) que mostró la ineficacia de la proteína C lo que obligó a su retirada del mercado [62].

1.2.3.12 SDRA inducido por sepsis y ventilación mecánica

La sepsis y el shock séptico se asocian con frecuencia a daño pulmonar y desarrollo del Síndrome de Dificultad Respiratoria Aguda (SDRA) por un doble mecanismo, indirecto (situaciones de shock y liberación de mediadores inflamatorios) y directo por efecto sobre el pulmón en el caso de la sepsis de origen pulmonar (neumonía) [63]. En las guías de tratamiento de la campaña “sobreviviendo a la sepsis” se utilizan las definiciones del Consenso Europeo-Americano de SDRA, que en su última actualización divide al SDRA en tres categorías: leve, para $\text{PaFiO}_2 \leq 300$, moderado para $\text{PaFiO}_2 \leq 200$ y grave cuando la PaFiO_2 es ≤ 100 [64].

La pérdida de capacidad ventilatoria del pulmón secundaria al SDRA hace que frecuentemente los pacientes con sepsis requieran de soporte ventilatorio. Este soporte no está exento de complicaciones tales como el barotrauma o la infección.

Con el fin de limitar estas complicaciones se han estudiado diferentes estrategias en las que se limita tanto el volumen corriente como la presión inspiratoria o espiratoria; a partir de estos estudios se derivan recomendaciones como: 1) Mantener un volumen corriente de 6 ml/Kg con una presión de meseta menor o igual a 30 cmH₂O [65]. 2) Utilizar PEEP (presión positiva al final de la espiración) mayor de 5 cmH₂O como estrategia para prevenir el colapso alveolar [66, 67]. 3) En centros donde haya experiencia, utilizar la posición de decúbito prono como método para mejorar la hipoxemia grave (PaFiO₂ < 100) [68]. 4) Mantener la cabecera a 30 - 45 grados para disminuir el riesgo de aspiración y de neumonía asociada al respirador [69]. 5) Realizar sistemáticamente intentos de desconexión una vez el paciente esté hemodinámicamente estable y con requerimientos bajos de FiO₂ y PEEP [70].

La ventilación mecánica no invasiva es una técnica que ofrece ventajas tales como un menor requerimiento de sedación y una mejor comunicación con el paciente, además de evitar complicaciones asociadas con el uso de la intubación orotraqueal como por ejemplo la neumonía asociada a ventilación mecánica [71, 72]. Por ello, se recomienda su uso siempre y cuando se tolere adecuadamente; los niveles de presión de soporte y PEEP sean bajos y no existan contraindicaciones tales como un bajo nivel de conciencia o incapacidad para defender la vía aérea.

Los pacientes con SDRA desarrollan edema pulmonar por un incremento en la permeabilidad capilar y una presión hidrostática aumentada junto con una presión oncótica disminuida [73]. Se recomienda utilizar una estrategia de fluidos conservadora en ausencia de hipoperfusión tisular, basándose en la medición de la presión venosa central (PVC < 4 mmHg) o de la presión capilar pulmonar (PCP < 8 mmHg) con el fin de disminuir la duración de la ventilación mecánica [74]. Los pacientes con SDRA inducida por sepsis bien seleccionados continúan siendo candidatos para la inserción de catéter de arteria pulmonar cuando las respuestas a decisiones de manejo importantes dependen de la información que se obtiene de mediciones directas. Sin embargo, se recomienda no utilizarlo rutinariamente [75].

1.2.3.13 Sedación, analgésicos y bloqueo neuromuscular

Se deben utilizar protocolos de sedación, bien sea continua o intermitente, con el fin de limitar la dosis de sedante al mínimo necesario para que la ventilación mecánica sea tolerada, ya que está demostrado que esto se relaciona con una menor estancia en UCI y menor tiempo de ventilación mecánica [76].

El uso de bloqueantes neuromusculares se recomienda en el caso del SDRA con $\text{PaFiO}_2 < 150 \text{ mmHg}$ donde se deben utilizar inicialmente para reducir las presiones pico de la vía respiratoria [77].

1.2.3.14 Control de la glucemia

La glucemia se debe mantener por debajo de 180 mg/dl mediante el uso de un protocolo de insulina en el que se monitorice la glucometría cada 1 – 2 horas hasta que los valores de glucosa y la tasa de infusión sean estables pasando luego a cada 4 horas. Esta recomendación se basa en los resultados del estudio NICE – SUGAR que demostró que en los pacientes de UCI un protocolo de insulino terapia más intensivo (glucometría menor de 110 mg/dL) se relacionó con un mayor riesgo de hipoglucemia y un incremento en la mortalidad [78].

1.2.3.15 Terapia de reemplazo renal y uso de bicarbonato

En los pacientes con sepsis, la terapia de reemplazo renal continua y la hemodiálisis intermitente son equivalentes [79]. En aquellos pacientes con inestabilidad hemodinámica es preferible utilizar la terapia de reemplazo renal continua al ser menos brusco el intercambio hídrico [80].

La infusión intravenosa de bicarbonato sódico está desaconsejada como tratamiento de la acidosis láctica inducida por la sepsis cuando el pH es $> 7,15$ [81, 82].

1.2.3.16 Prevención de la úlcera gastrointestinal y nutrición

Se recomienda el uso de profilaxis en pacientes que presenten factores de riesgo para hemorragia gastrointestinal tales como coagulopatía ($\text{INR} > 1.5$ o plaquetas < 50.000), uso de ventilación mecánica por más de 48 horas o hipotensión. Esta profilaxis se debe

realizar con inhibidores de bomba de protones o antagonistas H2 aunque se prefiere a los primeros. Los pacientes que no presentan factores de riesgo no deberían recibir profilaxis [83].

Se recomienda iniciar nutrición por vía oral o enteral tan pronto sea posible; esta debe iniciarse de forma progresiva. Esta estrategia se relaciona con una incidencia reducida de complicaciones infecciosas así como periodos de ventilación mecánica y estancia en UCI más cortos [84].

1.2.3.17 Profilaxis de la trombosis venosa profunda.

Se recomienda el uso de profilaxis para trombosis venosa en los pacientes con sepsis grave mediante el uso diario de heparina de bajo peso molecular o dos veces al día de heparina no fraccionada [85]. En pacientes con aclaramiento de creatinina inferior a 30 ml/min se puede utilizar dalteparina, otra heparina de bajo peso molecular que tenga poco metabolismo renal o heparina no fraccionada [86].

Cuando existe alguna contraindicación para el uso de heparina (trombocitopenia, coagulopatía grave, sangrado activo, hemorragia intracerebral reciente) se recomienda el uso de profilaxis mecánica mediante medias de compresión graduada o dispositivos de compresión neumática intermitente [87].

Un metaanálisis reciente de la colaboración Cochrane [88] combinó los hallazgos de 11 estudios y concluyó que la combinación de la profilaxis mecánica y la farmacológica es superior a su uso individual para prevenir la trombosis venosa profunda y es superior a la profilaxis mecánica aislada para prevenir el tromboembolismo pulmonar. Por ello, se sugiere el uso combinado de profilaxis farmacológica y mecánica siempre que sea posible.

1.3 Fisiopatología

1.3.1 Mecanismos básicos

La respuesta séptica es una cadena de eventos compleja que involucra procesos inflamatorios y antiinflamatorios, reacciones celulares y humorales y anormalidades

circulatorias [1]. Esta cadena puede llevar a una hipoperfusión generalizada, fallo multiorgánico y muerte.

Durante las últimas 4 décadas y hasta hace poco, la sepsis se entendía como el resultado de una respuesta inflamatoria descontrolada ante un estímulo infeccioso; sin embargo, los pobres resultados obtenidos con las terapias antiinflamatorias han llevado al replanteamiento de la fisiopatología de la sepsis, siendo ahora considerada como un desequilibrio entre reacciones proinflamatorias (diseñadas para eliminar a los patógenos invasores, pero a su vez causante de daño tisular) y respuestas antiinflamatorias (diseñadas para limitar la inflamación excesiva, pero al mismo tiempo haciendo al huésped más vulnerable a otros gérmenes); así, la hipótesis de que la inflamación excesiva es la causa única o principal de los efectos adversos de la sepsis en el paciente en el momento actual no se considera correcta [89].

El sistema inmunitario opera con elementos celulares que interactúan entre sí gracias a diversos mediadores y receptores químicos. La respuesta del huésped suele comenzar cuando las células de la inmunidad innata particularmente los macrófagos, reconocen y se unen a componentes microbianos tales como el lipopolisacárido (LPS) de membrana de las bacterias gram negativas, el ácido lipoteicoico de las gram positivas o el DNA bacteriano [90]. Este reconocimiento se realiza a través de un sistema de receptores reconocedores de patrones (PRR, por sus siglas en inglés), los cuales identifican patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP). Existen al menos tres familias de PRR: 1) Receptores Toll-like (TLR), 2) Dominios de Oligomerización de Nucleótidos (NOD) y 3) Helicasas similares al gen inducido por ácido retinoico I (RIG-I).

Las células de la inmunidad innata también reconocen señales endógenas, conocidas como patrones moleculares asociados a daño (DAMP) [91, 92]; ejemplos de estas señales son las proteínas de shock térmico (HSP), el fibrinógeno, el ácido hialurónico y la proteína del grupo 1 de alta movilidad (HMGB1), las cuales causan una mayor amplificación de la respuesta proinflamatoria.

La unión de los componentes microbianos a los PRR desencadena diversas vías de señalización intracelular para producir su efecto biológico. Los receptores TLR [93] desencadenan una cascada de señales mediadas a través del factor de transcripción NF- κ B que se desplaza del citosol al núcleo e induce la transcripción de citoquinas proinflamatorias tales como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF α), la interleucina-1 (IL-1) y quimiocinas como la molécula de adhesión intercelular (ICAM-1), la molécula de adhesión vascular 1 (VCAM-1) y el óxido nítrico, las cuales son liberadas a la circulación sanguínea y causan la activación de neutrófilos, monocitos, macrófagos, plaquetas y células endoteliales. Los leucocitos circulantes sufren una serie de cambios (rodamiento, adhesión, diapédesis y quimiotaxis) que les lleva al sitio donde se está produciendo la infección. Esta migración produce los signos clínicos de inflamación como el calor y el eritema debido a la vasodilatación local y la hiperemia y el edema secundarios a la permeabilidad microvascular.

De manera paralela, los PRR activan una serie de cascadas proteicas plasmáticas tales como la cascada de la coagulación, la fibrinólisis, el sistema de complemento y calicreína-quinina; además de estimular la síntesis de mediadores lipídicos eicosanoides (metabolitos del ácido araquidónico), factor activador de plaquetas (PAF) y radicales de oxígeno [91].

Simultáneamente a la respuesta proinflamatoria se desencadena otra antiinflamatoria a través de citoquinas como la interleucina 10 (IL-10) que antagonizan la producción de TNF α y IL-1 a nivel de las células mononucleares y los linfocitos T helper y antagonistas de citoquinas como el antagonista del receptor de la IL-1 (IL-1Ra) y el receptor soluble del TNF (sTNF-R) [94]. Además algunas moléculas antiinflamatorias como la IL-6 e IL-10 pueden tener también efectos proinflamatorios tales como la proliferación de células B, de células T citotóxicas y la producción de anticuerpos.

El sistema de complemento es otro de los mecanismos de defensa del huésped contra los patógenos. Existen tres vías para su activación: 1) la vía clásica; 2) la vía alternativa y 3) la vía de las lectinas. Tanto la vía clásica como la vía alternativa son mediadas por la interacción de un antígeno con un anticuerpo y se consideran parte de la inmunidad

adquirida, mientras que la activación de la vía de las lectinas es independiente de anticuerpos, utiliza un receptor de unión a manosas (MBL) para el reconocimiento de los patógenos y se considera parte de la inmunidad innata [95]. La activación de cualquiera de estas vías resulta en la formación del complejo de ataque a la membrana microbiana. Aunque el complemento es un sistema de defensa importante contra los microorganismos también se ha relacionado con efectos negativos en el shock séptico tales como fallo multiorgánico y muerte [96, 97]. A nivel experimental se ha trabajado en intervenciones que buscan bloquear la señalización del C5a y del C1 con el fin de disminuir la respuesta inflamatoria [98], consiguiendo disminuir la morbilidad en algunos modelos animales [89].

Los pacientes con sepsis de forma casi invariable presentan evidencia de activación del sistema de la coagulación. En condiciones normales el factor tisular (FT) se considera como el iniciador de la coagulación en sepsis. Los eventos procoagulantes están controlados por tres proteínas anticoagulantes principales: el inhibidor de la vía del factor tisular (TFPI), la antitrombina y la proteína C activada. Durante la sepsis grave la actividad del TFPI, la antitrombina y la proteína C activada se encuentra disminuida, lo que junto con el incremento de la actividad del FT genera un estado procoagulante [99].

Aunque la infección grave puede estar asociada con una fase de hiperinflamación, muchos, si no todos los pacientes que sobreviven a la fase aguda de la sepsis, desarrollan un estado prolongado de inmunosupresión, una condición conocida como inmunoparálisis. La mayor parte de los pacientes reclutados en estudios clínicos muestran evidencia de este estado de respuesta inmune disminuida. Aunque la inmunoparálisis se ha considerado como beneficiosa en el sentido que contrarresta un estado proinflamatorio devastador, también puede conducir a una incapacidad para controlar la infección y a una predisposición a la infección nosocomial. Un nivel de expresión de HLA-DR inferior al 30 % se relaciona con una mayor frecuencia de fallo multiorgánico y una mayor mortalidad en shock séptico [100].

1.3.2 Genética

Desde la publicación clásica de Sorensen et al [101], donde describió que el riesgo relativo de morir por una causa infecciosa era casi cinco veces mayor cuando el padre biológico había fallecido por una infección dentro de los primeros cincuenta años de vida, sabemos que los factores genéticos implican un riesgo heredable de morir por infección aún mayor que el riesgo para fallecer por cáncer o enfermedad cardiovascular.

Los trabajos que buscan explicar la relación entre la genética y el riesgo de infección se basan principalmente en estudios de asociación de polimorfismos y de genoma completo.

Un polimorfismo genético es una variación de la secuencia de DNA en una localización particular de un cromosoma. Existen tres tipos de polimorfismos: 1) Polimorfismos de nucleótido simple (SNP, por sus siglas en inglés); 2) Número variable de repeticiones en tándem (VNTR) y 3) Variación en el número de copias (CNV). De ellas, los SNP son con diferencia los polimorfismos más frecuentes y los más analizados en la actualidad. Se trata de cambios que afectan a una sola base (adenina (A), timina (T), citosina (C) o guanina (G)) de un nucleótido en una posición concreta del genoma. Estos cambios pueden ocurrir por deleciones, inserciones o sustituciones y aparecen con una frecuencia en promedio de 1 por cada 1000 pares de bases a lo largo del genoma. Los SNP se diferencian de una mutación puntual en que su frecuencia en la población general es superior al 1 % (figura 3).

Los SNP pueden provocar una deficiencia absoluta, una anomalía o un cambio en los niveles de expresión de una proteína aunque generalmente la mayoría de estos polimorfismos no tienen un impacto funcional (es decir, no hacen que aparezca una enfermedad o un rasgo determinado); sólo algunos polimorfismos tienen algún impacto y su herencia se determina por la evolución, es decir, cuando una variante presenta una ventaja para el individuo, el polimorfismo aumenta en frecuencia dentro de la población.

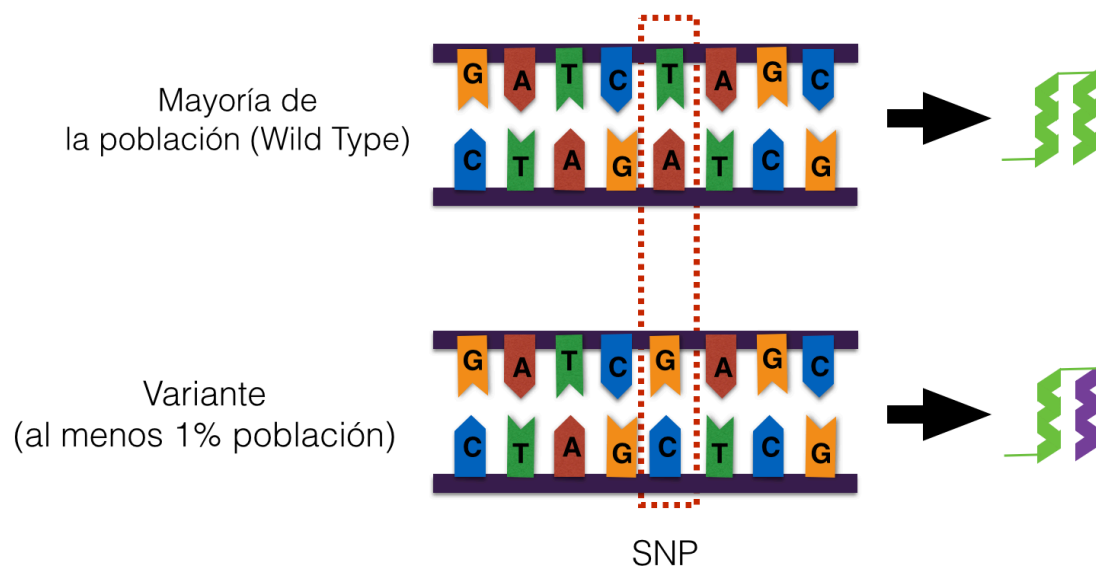


Figura 3. Polimorfismo de nucleótido simple (SNP).

Están descritas asociaciones entre SNP de genes relacionados con la detección microbiana, mecanismos de señalización de la respuesta inmune e inflamatoria, citoquinas pro y anti inflamatorias y la función endotelial con el pronóstico de los pacientes con sepsis. La mayoría de trabajos en este sentido utilizan el método de análisis de genes-candidatos, el cual tiene su origen en el estudio de enfermedades clásicas mendelianas determinadas por un único gen y analizadas mediante técnicas de análisis de ligamiento que buscan determinar riesgos aumentados o disminuidos para portadores de un determinado alelo en la población. Estos trabajos dirigen la búsqueda a genes “sospechosos” al estar implicados en las vías biológicas implicadas en la sepsis [102]. A continuación exponemos la literatura más relevante publicada en las últimas dos décadas con respecto a estos genes candidatos.

1.3.2.1 SNP relacionados con detección microbiana

CD14 (rs2569190)

El CD14 es una proteína de la membrana celular de los macrófagos, neutrófilos y células dendríticas que forma parte junto con el MD2 y el TLR4 del complejo de

receptor del LPS de la membrana de las bacterias gram negativas. El genotipo homocigoto T/T se relaciona con una mayor expresión de CD14 en los monocitos in vitro tras exposición a lipopolisacárido y en pacientes sépticos [103]. Los trabajos que examinan el rol de este polimorfismo en la sepsis reportan una mayor susceptibilidad a la sepsis en neonatos de bajo peso [104] y mayor riesgo de infección por gram negativos en adultos ingresados en UCI [105]. En cuanto a la gravedad de la enfermedad, los adultos sépticos en UCI portadores del genotipo T/T parecen tener una menor mortalidad [106]. Sin embargo estos reportes no son concluyentes ya que otros grupos no han encontrado cambios en la incidencia ni en el pronóstico de la sepsis [107, 108].

TLR2 (rs4696480 y rs5743708)

Es un receptor de membrana presente principalmente en los leucocitos de sangre periférica y se encarga de la detección de patógenos gram positivos al reconocer las lipoproteínas y el ácido lipoteicoico de la pared bacteriana. Sus mutaciones se asocian con mayor susceptibilidad a la infección por gram positivos [105, 109, 110] aunque en un estudio dirigido a infección por *S. aureus* no pudo confirmarse esta asociación [111].

TLR4 (rs4986790 y rs4986791)

El TLR4 es un receptor de la membrana leucocitaria que se encarga del reconocimiento de bacterias gram negativas al reconocer el LPS. Los polimorfismos de este gen se asocian a una susceptibilidad aumentada a la infección [112, 113] así como a una progresión más rápida [110] y a una mayor mortalidad en UCI debida a la infección [114, 115]. Estos polimorfismos se asocian también con un aumento del riesgo de sepsis y shock séptico tras quemadura [116]. Sin embargo, otros trabajos describen un menor riesgo de desarrollar sepsis grave en una cohorte de pacientes con sepsis post trauma [117] y un menor riesgo de desarrollar sepsis en la infección por neumococo en población pediátrica [118]. En la infección por meningococo no se ha encontrado ninguna asociación con susceptibilidad o gravedad de la enfermedad [119, 120].

MBL2 (rs1800450)

La lectina de unión a manosas (MBL) es una proteína humoral encargada del reconocimiento de PAMP mediante su unión a los carbohidratos presentes en la superficie de los microorganismos y actúa activando la cascada del complemento [95]. Los polimorfismos del gen de la MBL2 se asocian a menores niveles circulantes de esta proteína [121], lo cual a su vez se relaciona con mayor susceptibilidad a infecciones por *S. pneumoniae* [122 – 124], *N. meningitidis*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *Legionella* spp. entre otras. Además, bajos niveles de MBL se asocian con el desarrollo de sepsis grave [121], coagulación intravascular diseminada y fallo multiorgánico. Es importante anotar que aunque otros grupos no han podido replicar estos hallazgos [125], un reciente metaanálisis de todos los estudios publicados concluyó que los polimorfismos del MBL están asociados con mayor susceptibilidad a la infección [126].

Proteína C Reactiva (rs2794521)

La proteína sintetizada a partir de este gen pertenece a la familia de las pentaxinas. Su rol en la defensa del huésped se basa en su capacidad para detectar fosfocolinas de patógenos y células dañadas del huésped e iniciar su eliminación mediante la activación del complemento. El genotipo G/G del polimorfismo -717G (rs2794521) de la región promotora de la CRP se asocia con mayor mortalidad por pneumococo independientemente de los niveles de CRP en sangre. Además, el haplotipo 1184C, 2042C, 2911C se relaciona con menor colonización por *S. aureus* [127, 128].

NOD2 (rs2066844 y rs2066845)

El NOD2/CARD15 es un receptor de membrana encargado de la detección de peptidoglicanos bacterianos y sus principales variantes se encuentran en las posiciones 702, 908 y 1007. La presencia de dichos polimorfismos es un factor de riesgo para desarrollar bacteriemia [114] y se asocia con una mayor mortalidad por sepsis [129].

FCGR2A (rs1801274)

El FCGR2A es una proteína que hace parte del receptor de IgG tipo 2. Su activación media en el inicio de la fagocitosis y la citotoxicidad de los neutrófilos y es de particular importancia en la defensa contra microorganismos encapsulados. Los polimorfismos del gen del FGR2A en la posición 131 cambian la afinidad de esta proteína por la IgG2, lo que puede producir diferentes efectos sobre la susceptibilidad y la gravedad de la infección. Por una parte se ha descrito como factor de riesgo para desarrollar infección invasiva por neumococo [130 – 133] mientras que otros dos grupos reportan un efecto protector [134, 135].

1.3.2.2 SNP relacionados con vías de señalización intracelular

IRAK1 (rs1059702)

La cinasa asociada al receptor de la interleucina 1 (IRAK1) forma parte de la vía de señalización intracelular de los receptores tipo Toll y como tal, es importante en la regulación de la transcripción de mediadores inflamatorios, al ser un paso intermedio en la translocación del NF- κ B al núcleo. El polimorfismo en la posición 1595 del gen que codifica para el IRAK1 hace parte de un haplotipo presente en la población caucásica y su presencia se relaciona con un incremento de los niveles de NF- κ B a nivel nuclear, una mayor incidencia de sepsis [136], de shock y mayor necesidad de uso de ventilador así como mayor mortalidad [137, 138].

NFKBIA (rs2233406)

Es una proteína intracitoplasmática que regula la transcripción de genes mediadores de la respuesta inmune mediante la inhibición del factor de transcripción nuclear NF- κ B al formar un complejo que impide el paso del NF- κ B al núcleo. Existen mutaciones raras del gen del NFKBIA que producen formas muy infrecuentes de inmunodeficiencia [139]; polimorfismos más comunes en este gen se relacionan con una mayor susceptibilidad a la sepsis por neumococo [140].

TONSL (rs4925858 y rs760477)

La proteína TONSL (previamente conocida como NFKBIL2), se encarga de regular la transcripción proteica mediante la inhibición del NF- κ B. La heterocigosidad en dos polimorfismos de este gen se relaciona con una menor susceptibilidad a la infección invasiva por neumococo en un trabajo realizado en población europea y africana [141].

TIRAP (rs8177374)

Se trata de una proteína asociada a los receptores TLR 2 y 4 y cuya función es iniciar la cascada de señalización intracelular del NF- κ B, lo que a su vez resulta en la secreción de citoquinas proinflamatorias. Ser heterocigoto para el polimorfismo Ser180Leu se asocia con un efecto protector para infección por neumococo, malaria y tuberculosis en población europea, africana y asiática [142], aunque un estudio posterior en población alemana, africana y asiática no pudo replicar este hallazgo [143].

TRAF6 (rs4755453)

Forma parte de la familia de proteínas asociadas al receptor de TNF y se encarga de la transducción de señales del TNF y de la familia de la IL-1/Toll. Regula la respuesta inflamatoria activando a la cinasa del I κ B (IKK) en respuesta a citoquinas proinflamatorias. En pacientes ingresados en UCI, el alelo C del polimorfismo rs4755453 se relaciona con un mayor riesgo de daño pulmonar inducido por sepsis [144].

1.3.2.3 SNP relacionados con citoquinas proinflamatorias

Factor de Necrosis Tumoral (rs1800629)

El factor de necrosis tumoral (TNF) es una proteína que forma parte del grupo de las citoquinas proinflamatorias. En el año 1999 un primer estudio asoció un polimorfismo de la región promotora del TNF α (-308A rs1800629) con una mayor mortalidad en pacientes con sepsis grave y shock séptico [145]. Estudios posteriores relacionan este mismo polimorfismo con una mayor susceptibilidad a malaria cerebral y una mayor mortalidad por meningococemia. Sin embargo, otros grupos no han podido replicar

estos hallazgos. La cercanía de los locus para los genes de la linfotoxina y la HSP70 hace que algunos autores sugieran que se trata de asociaciones cruzadas [116, 145 – 153].

Interleucina 1B (rs16944)

La IL-1B es la citoquina proinflamatoria por excelencia; capaz de estimular la producción de otras citoquinas proinflamatorias así como estimular la médula ósea para la liberación de neutrófilos. Variantes en las posiciones -31 y -511 determinan una mayor producción de IL-1B como respuesta al lipopolisacárido en modelos experimentales [154]. Se ha implicado al polimorfismo en la posición -511 del gen de la IL-1B como un factor de mayor susceptibilidad a la infección por estreptococo del grupo A en un estudio de casos y controles con mujeres en puerperio [155] y también con un mayor riesgo de bacteremia en pacientes con trasplante renal [156] así como mayor gravedad y mortalidad en el caso de pacientes con infección por meningococo [157] y mayor riesgo de sepsis grave en pacientes quemados [116]. El polimorfismo en la posición -31, tiene una frecuencia en la población general casi idéntica la del polimorfismo en la posición -511 y se relaciona con mayor mortalidad en pacientes sépticos en población japonesa [158].

En contraste, no se ha encontrado asociación en el caso de sepsis por bacterias gram negativas [159] y en un estudio en población china de UCI tampoco se encontró asociación con susceptibilidad a la sepsis [160]. Esta discrepancia llevó a la realización de un metaanálisis reciente donde se combinaron los resultados de siete trabajos, sin encontrarse una asociación significativa entre los SNP de las posiciones -31 y -511 y la susceptibilidad para desarrollar o fallecer por sepsis. La falta de homogeneidad de las poblaciones entre los estudios y número de pacientes limitado hacen difícil obtener una conclusión definitiva [161].

Interleucina 6 (rs1800795)

La interleucina 6 es una glucoproteína secretada por los macrófagos y células T y hace parte de las citoquinas proinflamatorias aunque también tiene actividad

antiinflamatoria. El polimorfismo en la posición -174 (rs1800795) del gen de la IL-6 se relaciona con niveles alterados de IL-6 circulante y está descrita una asociación con un peor pronóstico en la sepsis de pacientes quemados o que han sufrido un traumatismo grave. De nuevo, estos hallazgos no son consistentes, existiendo otros estudios que muestran un nulo efecto sobre la supervivencia o incluso un efecto protector [116, 162 – 168].

1.3.2.4 SNP relacionados con citoquinas anti-inflamatorias

Interleucina 10 (rs1800872 y rs1800896)

La interleucina 10 es una proteína producida principalmente por los monocitos y en menor medida por los linfocitos. Posee propiedades pleiotrópicas en la regulación de la respuesta inmune e inflamatoria. Inhibe la expresión de citoquinas proinflamatorias y de las moléculas del complejo de histocompatibilidad tipo II y favorece la activación de células B y la producción de anticuerpos.

El haplotipo -592C/734G/3367G está descrito como un predictor importante de la sepsis por neumonía al asociarse con un incremento en la mortalidad y la disfunción orgánica en pacientes críticos con sepsis de origen pulmonar mas no en sepsis de otro origen [169]. Los homocigotos para el alelo G en la posición 1082 (heredado en desequilibrio de ligamiento y equivalente por tanto al haplotipo -592C/734G/3367G) tienen un mayor riesgo de shock séptico en el contexto de neumonía neumocócica [170] y mayor mortalidad en neumonía adquirida en comunidad [171]. Este efecto puede estar relacionado con la capacidad de la IL-10 de inhibir la función inflamatoria y el daño mediado por los macrófagos, la IL-1 y el TNF a nivel alveolar [194].

En los casos de sepsis de origen extrapulmonar el alelo A en la posición 1082 se relaciona con una mayor susceptibilidad para desarrollar sepsis [172] y peritonitis en UCI [173], mientras que el alelo G determina mayores niveles de IL-10 y una mayor mortalidad por sepsis en población europea [172], hallazgo replicado en población china [174].

1.3.2.5 SNP relacionados con la función endotelial

ADRB2 (rs1042717)

El receptor adrenérgico B2 es una proteína integral de membrana que actúa como receptor beta adrenérgico. A nivel endotelial regula la relajación del músculo liso al inducir vasodilatación. Se expresa también en la membrana leucocitaria donde tiene un efecto inhibitorio sobre la respuesta proinflamatoria [175].

El genotipo A/A del polimorfismo rs1042717 determina una mayor necesidad de vasopresores adrenérgicos en pacientes con shock séptico así como una mayor probabilidad de fallo multiorgánico y mortalidad a 28 días [176].

AGTRAP (rs11121816)

La proteína asociada con el receptor tipo 1 de la angiotensina 2 es una proteína transmembrana que se encarga de inhibir la vía de señalización de la angiotensina II.

El genotipo G/G del polimorfismo rs11121816 del gen que codifica para la AGTRAP se relaciona con hipotensión, taquicardia y una mayor mortalidad a 28 días en pacientes con shock séptico [177].

LNPEP (rs4869317)

La Leucilcistinil aminopeptidasa, también denominada vasopresinasa es una enzima que se encarga de degradar a la vasopresina, la oxitocina, la bradiquinina y otras hormonas peptídicas.

El polimorfismo rs4869317 se relaciona con un incremento en la depuración de la vasopresina y una mayor variación en los niveles séricos de sodio junto con una mayor mortalidad por shock séptico a 28 días en pacientes sometidos a cirugía cardíaca [178].

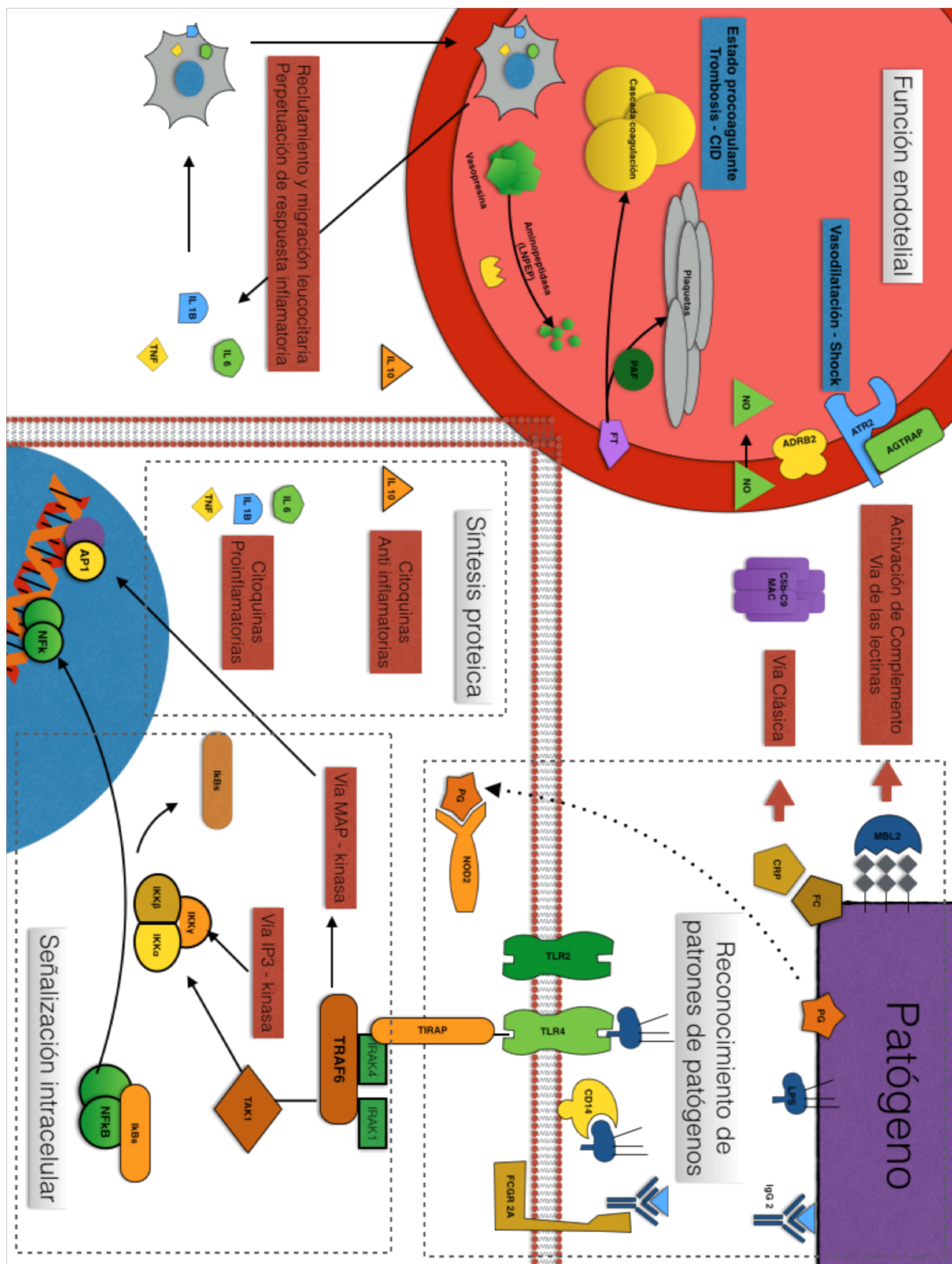


Figura 4. Principales receptores y vías de señalización de la inmunidad innata relacionados con la sepsis. Peptidoglicano (PG), lipopolisacárido (LPS), fosfocolina (FC), proteína C reactiva (CRP), complejo de ataque a membrana (MAC), inhibidores del NF-κB (IκBs), cinasa IκB (IKK), fosfoinositol 3 cinasa (IP3K), óxido nítrico (NO), factor activador de plaquetas (PAF).

2 JUSTIFICACIÓN

El diagnóstico precoz y la estratificación de la gravedad de la sepsis incrementan la posibilidad de iniciar un tratamiento oportuno y dirigido con el fin de disminuir su mortalidad [9]. Sin embargo, esto es dificultoso debido a la gran variabilidad y la inespecificidad de sus signos y síntomas. De esta heterogeneidad clínica se deriva la importancia de buscar biomarcadores que sirvan como predictores de susceptibilidad y pronóstico de la sepsis.

Hasta ahora, la búsqueda de biomarcadores ha sido poco exitosa. La medición rutinaria de endotoxina, procalcitonina u otros marcadores no está recomendada [14]. La interpretación de los niveles obtenidos es problemática en pacientes que sufren un proceso inflamatorio agudo secundario a causas no infecciosas (p.ej. posoperatorio, fallo cardíaco, neoplasia, etc.). Tampoco han sido exitosos la mayoría de estudios clínicos de intervenciones en shock séptico no por desconocimiento del principio biológico o fisiológico aplicado, sino por la incapacidad para dirigirse específicamente a la heterogeneidad sustancial que caracteriza a este síndrome [179].

La heterogeneidad clínica es el reto principal y su solución yace en nuestra capacidad de reducirla y manejarla adecuadamente a través de una mejor estratificación de los pacientes. El concepto de estratificación pre intervención consiste en definir subgrupos de pacientes con mejor o peor pronóstico ante la infección mediante la determinación de variantes del genotipo (SNP), concepto que ya ha demostrado su utilidad en modelos experimentales de sepsis polimicrobiana [180].

En las últimas dos décadas se han estudiado múltiples variantes en los genes que codifican para las moléculas que hacen parte de las vías de la inmunidad innata, llevándose a cabo trabajos que demuestran la relación de estas variantes con la susceptibilidad y el pronóstico de la sepsis [102]. El interés suscitado por este grupo de genes está más que justificado debido al rol de la inmunidad innata como primera línea de defensa del huésped contra la infección y por la capacidad que tienen las variantes genéticas para modular esta respuesta en múltiples niveles.

La modulación genética de la inmunidad innata va desde el reconocimiento del microorganismo, el control de las cascadas inflamatorias, la elaboración de moléculas

efectoras y la eliminación del patógeno hasta las interacciones con la respuesta inmune adaptativa. La sepsis se entiende cada vez más como un estado de mala regulación del proceso inflamatorio que conlleva una pérdida de la función protectora normal de la inmunidad innata y produce un daño en el huésped. Cada uno de los mecanismos que hacen parte de la inmunidad innata y que son regulados por los polimorfismos genéticos se convierten entonces en una diana terapéutica potencial y generan la posibilidad de desarrollar tratamientos personalizados.

Sin embargo, la gran mayoría de los trabajos que han evaluado genes candidatos de la inmunidad innata en la sepsis se han realizado en pacientes ingresados en UCI médicas o médico-quirúrgicas, tanto en adultos como en población pediátrica y con motivos de ingreso diversos, tales como quemaduras o politraumatismo. Existen muy pocos estudios que evalúan el papel de estos genes en el caso de la población quirúrgica, lo que hace que la aplicabilidad en el ámbito quirúrgico de los resultados obtenidos en otras poblaciones sea desconocida y justifica su análisis en nuestros pacientes.

3 HIPÓTESIS DE TRABAJO

Los polimorfismos genéticos de nucleótido simple de genes de la inmunidad innata determinan un riesgo incrementado o disminuido para desarrollar sepsis, shock séptico y muerte en poblaciones no quirúrgicas. Estas variantes pueden definir un perfil de riesgo en población española sometida a cirugía cardíaca o abdominal.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo principal

El objetivo principal de este estudio es determinar si los polimorfismos de un solo nucleótido relacionados con la inmunidad innata determinan un cambio en el riesgo de desarrollar sepsis grave y shock séptico, así como su efecto en la mortalidad después de una cirugía mayor en la población europea.

4.2 Objetivos específicos

1. Determinar las frecuencias alélicas y las distribuciones genotípicas de los SNP seleccionados en la población de estudio.
2. Buscar asociaciones con la susceptibilidad a la sepsis al comparar casos contra controles afectados de SRIS de origen no infeccioso.
3. Buscar asociaciones con el pronóstico de la sepsis mediante el análisis de la mortalidad global y el comportamiento de las curvas de supervivencia.
4. Evaluar la capacidad pronóstica de SNP aislados o en combinación mediante la elaboración de curvas de características operador-receptor (ROC).
5. Definir perfiles específicos de riesgo genético para pacientes posquirúrgicos de acuerdo al tipo de cirugía (cardíaca o abdominal).

5 MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Financiación

El desarrollo de este trabajo fue posible gracias a la financiación de la Junta de Castilla y León a través de los proyectos con referencias: 18IKMW99 (BOCYL-D-07092011-17) y GRS 773/A/13.

5.2 Pacientes

Se realizó un estudio prospectivo de genes candidatos en casos y controles, en pacientes mayores de 18 años que se sometieron a cirugía cardíaca o abdominal en el Hospital Clínico Universitario de Valladolid (España), entre diciembre de 2008 y junio de 2012. Además, se realizó un subestudio longitudinal para el análisis de la supervivencia en pacientes sépticos. Todos los pacientes dieron su consentimiento por escrito para el estudio. El estudio se realizó de conformidad con la Declaración de Helsinki y fue aprobado por el Comité de Ética Institucional.

Inicialmente, se incluyeron 253 pacientes con sepsis grave o shock séptico (grupo caso) y 277 pacientes con síndrome de respuesta inflamatoria sistémica de origen no infeccioso (SRIS, grupo control). Los sujetos del grupo control fueron pacientes que se sometieron a cirugía cardíaca o abdominal y tenían edad y sexo similar a los casos. 5 casos y 13 controles fueron excluidos al no poderse determinar su genotipo debido a la baja calidad del DNA. Finalmente, 248 casos y 264 controles se incluyeron en este estudio.

5.3 Datos clínicos

Los datos demográficos y clínicos se obtuvieron de la historia clínica de cada paciente: edad, sexo, tipo de cirugía, comorbilidades como diabetes, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, hipertensión arterial, fallo renal crónico, enfermedad hepática y cáncer. Para evaluar la gravedad de la sepsis se registró el peor dato de los siguientes parámetros en las primeras 24 horas tras el diagnóstico: temperatura, presión arterial media, frecuencia cardíaca, frecuencia respiratoria, relación PaO₂/FiO₂, sodio, potasio, creatinina, bilirrubina total, plaquetas, lactato, procalcitonina, proteína C-reactiva (CRP), saturación venosa central de oxígeno (SO₂vc), glucosa, recuento de leucocitos,

neutrófilos, Relación Normalizada Internacional (INR), Puntuación del Acute Physiology and Chronic Health Evaluation System (APACHE II) [181] y puntuación de la Sequential Organ Failure Assessment (SOFA) [182]. También se registraron los sitios de infección y tipos de microorganismos causantes de la infección.

5.4 Diagnóstico de sepsis

El diagnóstico de sepsis grave o shock séptico se estableció de acuerdo con los criterios de la SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference [13]. La presencia de infección fue bien documentada o se presumió sobre la base de los hallazgos clínicos. En el caso de los pacientes con sepsis, cuando la infección fue sospechada fuertemente sin ser confirmada microbiológicamente, dos médicos con experiencia discutieron y llegaron a un consenso en el diagnóstico de acuerdo con los hallazgos físicos y de laboratorio. Definimos diferentes grados de afectación clínica: SRIS, sepsis, sepsis grave y shock séptico.

5.5 Selección de polimorfismos

Se realizó una búsqueda sistemática de PUBMED hasta el 12 de Julio de 2013, con las siguientes palabras clave: SNP, gen candidato, sepsis, shock séptico y neumonía, en inglés y español. 3 de los autores revisaron de forma independiente los SNP preseleccionados. De 40 SNP candidatos, se seleccionaron 33 SNP según las frecuencias alélicas y genotípicas en población europea. Finalmente de esos 33 SNP se seleccionaron 23 SNP según la factibilidad técnica para su genotipado (CeGen) (Tabla 1).

Los SNP seleccionados están relacionados con la inmunidad innata al ser ésta el principal mecanismo de respuesta del organismo ante la infección en la fase aguda. Estos SNP son representativos de las vías más importantes de actuación: detección microbiana, señalización intracelular, citoquinas pro y antiinflamatorias y función endotelial.

Tabla 1. Genes y SNP candidatos seleccionados organizados por clase funcional.

Detección microbiana	Señalización	Citoquinas proinflamatorias	Citoquinas anti-inflamatorias	Función endotelial
MBL2 (rs1800450)	IRAK1 (rs1059702)	IL-1B (rs16944)	IL-10 (rs1800872)	ADRB2 (rs1042717)
CRP (rs2794521)	NFKBIA (rs2233406)	IL-6 (rs1800795)	IL-10 (rs1800896)	AGTRAP (rs11121816)
FCGR2A (rs1801274)	TONSL (rs4925858)			LNPEP (rs4869317)
NOD2 (rs2066844)	TONSL (rs760477)			
NOD2 (rs2066845)	TIRAP (rs8177374)			
CD14 (rs2569190)	TRAF6 (rs4755453)			
TLR2 (rs4696480)				
TLR2 (rs5743708)				
TLR4 (rs4986790)				
TLR4 (rs4986791)				

Símbolos de los genes según la Human Genome Organization.

5.6 Muestra

Se recogió una muestra de sangre periférica en tubos de EDTA tanto para los casos como para los controles cuando se confirmó el diagnóstico clínico. Todos los tubos fueron adecuadamente identificados mediante una pegatina en el tubo indicando el número de historia del paciente y la fecha de extracción de la muestra. Las muestras fueron procesadas en las primeras 48 horas después de la extracción con el fin de preservar su calidad.

5.6 Genotipado

La extracción de DNA a partir de sangre periférica se realizó con el kit High Pure PCR Template Preparation (Roche®). Las muestras de DNA fueron enviadas al Centro Nacional de Genotipado Español (CeGen; <http://www.cegen.org/>) con el fin de determinar el genotipo de los 23 polimorfismos. La genotipificación se realizó mediante la plataforma MassArray de Sequenom (San Diego, CA, USA) utilizando la tecnología iPLEX® Gold con un panel pre-diseñado y a medida.

5.7 Variables de resultado

Se analizaron tres variables de resultado principales:

- 1) Susceptibilidad a la infección determinada por el diagnóstico de sepsis grave o shock séptico.

- 2) Mortalidad temprana: Se definió como el fallecimiento de los pacientes con diagnóstico de sepsis grave o shock séptico en los primeros 28 días.
- 3) Mortalidad tardía: Se definió como el fallecimiento de los pacientes con diagnóstico de sepsis grave o shock séptico en los primeros 90 días.

5.8 Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó con el paquete the Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) versión 22 (SPSS INC, Chicago, IL, USA). Para todos los análisis se definió significación estadística como un valor de $p < 0,05$. Se realizó una estadística descriptiva de la población de estudio. Las variables categóricas y las proporciones se analizaron utilizando el test de Chi-cuadrado. Las variables cuantitativas se analizaron utilizando la T de Student y la U de Mann-Whitney de acuerdo a si cumplían el criterio de normalidad.

Para el análisis de los polimorfismos se utilizó el paquete de R SNPAssoc (cran.r-project.org/web/packages/SNPAssoc/index.html) [183]. Se realizó una descripción estadística y un análisis de desviación del equilibrio de Hardy-Weinberg para cada polimorfismo. Se estableció el modelo de herencia más adecuado para cada polimorfismo, mediante los criterios estadísticos de información de Akaike y Bayesiano, eligiendo aquel modelo con menor valor de los mismos y que correspondió al modelo de herencia con una p de menor valor. Se calcularon las OR de asociación entre cada genotipo y la variable resultado y los correspondientes intervalos de confianza del 95 %.

Se realizó un análisis de regresión logística para evaluar la relación entre cada genotipo y el desarrollo de sepsis grave o shock séptico (grupo caso vs. grupo control). También evaluamos la relación del genotipo con el riesgo de mortalidad a 28 y 90 días. Todos los análisis de regresión logística se ajustaron por edad, sexo, condiciones previas o preexistentes (comorbilidades) y tipo de cirugía (cardíaca o abdominal).

Las curvas de supervivencia en pacientes con sepsis grave o shock séptico (grupo caso) se realizaron mediante el método de Kaplan-Meier y las diferencias entre las medianas

de supervivencia de los grupos determinados por cada genotipo se compararon mediante el test de log-rank. Se realizó un análisis multivariante mediante el modelo de riesgos proporcionales de Cox. Todos los análisis se ajustaron por edad, sexo, tipo de cirugía (cardíaca o abdominal), insuficiencia renal crónica, lactato, CRP y puntuación APACHE II, al ser las variables que mejor predijeron la mortalidad en un análisis de regresión logística binaria por pasos (Stepwise algorithm).

Para cada polimorfismo asociado significativamente con susceptibilidad a la sepsis se determinó la probabilidad diagnóstica mediante un análisis de regresión logística bivariada y se procedió a realizar un análisis de área bajo la curva ROC. A continuación se evaluó la interacción de dichos polimorfismos con la probabilidad pronóstica prequirúrgica (regresión múltiple hacia delante por método de Wald).

Del mismo modo para cada polimorfismo asociado con mortalidad se realizaron análisis de área bajo la curva ROC y se evaluó su interacción con el mejor modelo clínico obtenido en el análisis de regresión logística bivariada.

6 RESULTADOS

6.1 Características de la población de estudio

Las características demográficas y clínicas de la población se muestran en las tablas 2 y 3. No hubo diferencias significativas en la edad y el género. Los casos se caracterizaron por una mayor puntuación en las escalas de gravedad de la enfermedad (APACHE II y SOFA) frente a los controles ($p < 0,001$) así como por unos mayores niveles de lactato, CRP, procalcitonina, creatinina, bilirrubina total, INR, TTPa y un mayor recuento leucocitario ($p < 0,001$).

Por otra parte, el grupo caso tuvo una mayor proporción de pacientes con enfermedad renal crónica ($p = 0.001$) y cirugía abdominal ($p < 0,0001$), mientras que el grupo control tuvo un mayor porcentaje de pacientes con neoplasia ($p = 0,002$), cardiopatía ($p = 0.0001$) y cirugía cardíaca ($p < 0,0001$).

Tabla 2. Características poblacionales.

Característica	Controles	Casos	p
n	264	248	
Edad (años), (1)	71(9,8)	70,7(11,5)	0,77
Sexo (M/F), (2)	168(63,6)/96(36,4)	157(63,3)/91(36,7)	0,93
Cirugía, (2)			
Cardíaca	152(57,6)	103(41,5)	<0,0001
Abdominal	112(42,4)	145(58,5)	<0,0001
Comorbilidades, (2)			
Diabetes	50(18,9)	34(13,7)	0,11
Cardiopatía	161(61)	109(44)	<0,0001
EPOC	35(13,3)	40(16,1)	0,35
HTA	162(61,4)	139(56)	0,22
Enfermedad renal crónica	15(5,7)	37(14,9)	0,001
Neoplasia	94(35,6)	57(23)	0,002
Hepatopatía	5(1,9)	11(4,4)	0,099
Obesidad	35(13,3)	33(13,3)	0,98
Tabaquismo	38(14,4)	45(18,1)	0,25
Enolismo	10(3,8)	18(7,3)	0,084

1 T de Student, media(\pm DE) 2 Chi-cuadrado, n(%). $p \leq .05$ fue considerada significativa. Para las variables cuantitativas se evaluó la normalidad de distribución mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov.

Tabla 3. Índices de gravedad y microbiología.

Característica	Controles n = 264	Casos n = 248	p
Gravedad de la enfermedad			
APACHE II, (3)	9(8 - 9)	16(13 - 19)	<0,0001
SOFA, (3)	3(3 - 4)	8(7 - 10)	<0,0001
Lactato arterial (mEq/L), (3)	20(13 - 30)	24(15 - 36)	<0,0001
CRP (mg/L), (3)	14,55(7 - 54,3)	237(136 - 301)	<0,0001
Procalcitonina (ng/ml), (3)	0,26(0,11 - 0,65)	4,31(1,33 - 15,7)	<0,0001
SvO2 (%), (1)	73,1(11,8)	70,6(10,3)	0,16
Leucocitos (x10 ³ µl), (3)	10610(8807,5 - 13230)	14690(9300 - 20300)	<0,0001
Valores de laboratorio			
Creatinina (mg/dl), (3)	0,93(0,74 - 1,11)	1,58(0,95 - 2,55)	<0,0001
Bilirrubina total (mg/dl), (3)	0,59(0,43 - 0,87)	0,96(0,53 - 1,75)	<0,0001
Glucosa (mg/dl), (1)	160,3(49,3)	168,7(60,4)	0,08
Hematocrito (%), (3)	30,8(27,8 - 34)	29,9(26,7-32,1)	0,001
Plaquetas (x10 ³ /mm ³), (3)	145500(112000 - 195000)	166000(93000 - 248000)	0,47
INR, (3)	1,36(1,24 - 1,5)	1,46(1,3 - 1,75)	<0,0001
TTPa, (3)	1,17(1,05 - 1,35)	1,35(1,17 - 1,59)	<0,0001
Sitio de infección, (2)			
Neumonía	NA	118(47,6)	
Peritonitis	NA	111(44,8)	
Bacteremia/catéter	NA	83(33,5)	
Endocarditis	NA	16(6,5)	
ITU	NA	29(11,7)	
Exudado herida/Infección sitio quirúrgico	NA	61(24,6)	
Microbiología, (2)			
Gram positivos	NA	42(16,9)	
Gram negativos	NA	53(21,4)	
Hongos	NA	7(2,8)	
Mixto	NA	89(35,9)	
Cultivos negativos	NA	57(23)	

1 T de Student, media(± DE) 2 Chi-cuadrado, n(%) 3 Mann-Whitney, mediana(RIC). p ≤ .05 fue considerada significativa. Para las variables cuantitativas se evaluó la normalidad de distribución mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov. NA, no aplica. APACHE II, Acute Physiology And Chronic Health Evaluation; SOFA, Sequential Organ Failure Assesment.

Entre los casos hubo 132 supervivientes y 116 fallecidos (Tablas 4 y 5). El grupo no superviviente se caracterizó por una mayor edad (p < 0,0001), una mayor puntuación de APACHE II y SOFA (p < 0,0001), mayores niveles de lactato arterial (p < 0,0001),

procalcitonina ($p = 0,007$), creatinina ($p = 0,001$) y menor número de plaquetas ($p < 0,0001$), así como una mayor proporción de pacientes con cirugía abdominal ($p = 0,004$) y de peritonitis ($p = 0,005$), además de presentar con mayor frecuencia antecedente de enfermedad renal crónica ($p = 0,002$).

Tabla 4. Características de los casos.

Casos (n=248)			
Característica	Supervivientes	Fallecidos	p
n	132	116	
Edad (años), (2)	68(57,5 - 78)	78(67 - 81)	<0,0001
Sexo (M/F), (1)	86(65,2)/46(34,8)	71(61,2)/45(38,8)	0,52
Cirugía, (1)			
Cardíaca	66(50)	37(31,9)	0,004
Abdominal	66(50)	79(68,1)	0,004
Comorbilidades, (1)			
Diabetes	20(15,2)	14(12,1)	0,48
Cardiopatía	58(43,9)	51(44)	0,99
EPOC	18(13,6)	22(19)	0,25
HTA	73(55,3)	66(56,9)	0,8
Enfermedad renal crónica	11(8,3)	26(22,4)	0,002
Neoplasia	27(20,5)	30(25,9)	0,31
Hepatopatía	5(3,8)	6(5,2)	0,59
Obesidad	15(11,4)	18(15,5)	0,33
Tabaquismo	25(18,9)	20(17,2)	0,73
Enolismo	8(6,1)	10(8,6)	0,44

1 Chi-cuadrado, n(%) 2 Mann-Whitney, mediana(RIC). $p \leq .05$ fue considerada significativa. Para las variables cuantitativas se evaluó la normalidad de distribución mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov.

Tabla 5. Índices de gravedad y microbiología de los casos.

Casos (n=248)			
Característica	Supervivientes n = 132	Fallecidos n = 116	p
Gravedad de la enfermedad			
APACHE II, (3)	14(12 - 17)	17(15 - 21)	<0,0001
SOFA, (3)	8(6 - 9,5)	9(7,75 - 11)	<0,0001
Lactato arterial (mEq/L), (3)	21(14 - 28,5)	30,5(17 - 43,62)	<0,0001
CRP (mg/L), (1)	214,69(107,17)	256,01(124,09)	0,1
Procalcitonina (ng/ml), (3)	3,13(1 - 9,77)	5,47(1,82 - 20,5)	0,007
SvO2 (%), (1)	70,54(9,18)	72,04(9,87)	0,27
Leucocitos (x10 ³ µl), (1)	16036(8372)	16616(11503,2)	0,76
Valores de laboratorio			
Creatinina (mg/dl), (3)	1,37(0,94 - 2,12)	1,81(1,05 - 3,02)	0,001
Bilirrubina total (mg/dl), (1)	1,26(1,16)	1,45(1,38)	0,22
Glucosa (mg/dl), (1)	169,8(57,9)	166,78(62,72)	0,75
Hematocrito (%), (1)	29,81(4,9)	29,63(4,75)	0,67
Plaquetas (x10 ³ /mm ³), (3)	178000(102500 - 286500)	123500(88750 - 207750)	<0,0001
INR, (1)	1,54(0,48)	1,72(0,9)	0,06
TTPa, (1)	1,37(0,34)	1,40(0,46)	0,28
Sitio de infección, (2)			
Neumonía	66(50)	52(44,8)	0,41
Peritonitis	48(36,4)	63(54,3)	0,005
Bacteremia/catéter	49(37,1)	34(29,3)	0,19
Endocarditis	8(6,1)	8(6,9)	0,79
ITU	15(11,4)	14(12,1)	0,86
Exudado herida/Infección sitio quirúrgico	32(24,2)	29(25)	0,89
Microbiología, (2)			
Gram positivos	23(17,4)	19(16,4)	0,82
Gram negativos	28(21,2)	25(21,6)	0,94
Hongos	4(3)	3(2,6)	0,83
Mixto	45(34,1)	44(37,9)	0,52
Cultivos negativos	32(24,2)	25(21,6)	0,61

1 T de Student, media(± DE) 2 Chi-cuadrado, n(%) 3 Mann-Whitney, mediana(RIC). p ≤ .05 fue considerada significativa. Para las variables cuantitativas se evaluó la normalidad de distribución mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov. APACHE, Acute Physiology And Chronic Health Evaluation; SOFA, Sequential Organ Failure Assesment.

6.2 Distribución de las frecuencias genotípicas

La distribución de las frecuencias genotípicas y alélicas, así como el equilibrio de Hardy-Weimberg evaluado en la población control se agruparon por clase funcional y se muestran en las tablas 6, 7, 8, 9 y 10.

Tabla 6. Distribución de las frecuencias genotípicas para los SNP relacionados con la detección microbiana.

SNP	HWE (p)(1)	Genotipo	Controles n(%)	Casos n(%)	Alelos	Controles n(%)	Casos n(%)
rs1800450	0,23	G/G	186(73,22)	180(72,9)	A	76(14,96)	75(15)
		A/G	60(23,62)	59(23,9)	G	432(85,03)	419(85)
		A/A	8(3,14)	8(3,2)			
		NA	10	1			
rs1801274	0,32	C/C	80(30,53)	63(25,5)	C	282(53,81)	254(51)
		C/T	122(46,56)	128(51,8)	T	242(46,18)	240(49)
		T/T	60(22,90)	56(22,7)			
		NA	2	1			
rs2066844	0,45	C/C	239(90,87)	223(89,9)	C	501(95,24)	471(95)
		C/T	23(8,74)	25(10,1)	T	25(4,75)	25(5)
		T/T	1(0,38)	0(0)			
		NA	1	0			
rs2066845	1	G/G	262(99,24)	243(98)	G	526(99,62)	491(99)
		C/G	2(0,75)	5(2)	C	2(0,37)	5(1)
		NA	2	0			
rs2569190	0,8	A/A	63(24,32)	73(29,4)	A	253(48,84)	257(52)
		A/G	127(49,03)	111(44,8)	G	265(51,15)	239(48)
		G/G	69(26,64)	64(25,8)			
		NA	5	0			
rs2794521	1	T/T	143(54,78)	129(52,2)	C	135(25,86)	146(30)
		C/T	101(38,69)	90(36,4)	T	387(74,13)	348(70)
		C/C	17(6,51)	28(11,3)			
		NA	3	1			
rs4696480	1	A/A	73(27,86)	82(33,2)	A	277(52,86)	280(57)
		A/T	131(50)	116(47)	T	247(47,13)	214(43)
		T/T	58(22,13)	49(19,8)			
		NA	2	1			
rs4986790	0,04	A/A	229(86,74)	224(90,3)	A	489(92,61)	470(95)
		A/G	31(11,74)	22(8,9)	G	39(7,38)	26(5)
		G/G	4(1,51)	2(0,8)			
		NA	0	0			
rs4986791	0,034	C/C	230(87,12)	221(89,1)	C	490(92,80)	467(94)
		C/T	30(11,36)	25(10,1)	T	38(7,20)	29(6)
		T/T	4(1,51)	2(0,8)			
		NA	0	0			
rs5743708	1	G/G	259(98,11)	242(97,6)	G	523(99,05)	490(99)
		A/G	5(1,89)	6(2,4)	A	5(0,95)	6(1)
		NA	0	0			

1 HWE, Equilibrio de Hardy-Weimberg evaluado en la población control.

Tabla 7. Distribución de las frecuencias genotípicas para los SNP relacionados con señalización intracelular.

SNP	HWE (p) (1)	Genotipo	Controles n(%)	Casos n(%)	Alelos	Controles n(%)	Casos n(%)
rs1059702	<0,0001	C/C	211(80,53)	209(84,6)	C	442(84,35)	433(88)
		C/T	20(7,63)	15(6,1)	T	82(15,64)	61(12)
		T/T	31(11,83)	23(9,3)			
		NA	2	1			
rs2233406	0,89	C/C	121(46,36)	132(53,4)	C	357(68,39)	356(72)
		C/T	115(44,06)	92(37,2)	T	165(31,61)	138(28)
		T/T	25(9,57)	23(9,3)			
		NA	3	1			
rs4755453	0,21	G/G	195(74,14)	180(72,6)	C	76(14,44)	71(14)
		C/G	60(22,81)	65(26,2)	G	450(85,55)	425(86)
		C/C	8(3,04)	3(1,2)			
		NA	1	0			
rs4925858	0,083	G/G	77(29,50)	63(25,7)	G	270(51,72)	250(51)
		A/G	116(44,44)	124(50,6)	A	252(48,27)	240(49)
		A/A	68(26,05)	58(23,7)			
		NA	3	3			
rs760477	0,034	C/C	81(31,27)	66(26,7)	C	274(52,89)	254(51)
		C/T	112(43,24)	122(49,4)	T	244(47,10)	240(49)
		T/T	66(25,48)	59(23,9)			
		NA	5	1			
rs8177374	0,045	C/C	177(67,30)	169(68,2)	C	425(80,79)	407(82)
		C/T	71(26,99)	69(27,8)	T	101(19,20)	89(18)
		T/T	15(5,70)	10(4)			
		NA	1	0			

1 HWE, Equilibrio de Hardy-Weimberg evaluado en la población control.

Tabla 8. Distribución de las frecuencias genotípicas para los SNP relacionados con citoquinas proinflamatorias.

SNP	HWE (p)(1)	Genotipo	Controles n(%)	Casos n(%)	Alelos	Controles n(%)	Casos n(%)
rs16944	0,28	G/G	134(51,14)	119(48)	A	144(27,48)	158(32)
		A/G	112(42,74)	100(40,3)	G	380(72,51)	338(68)
		A/A	16(6,10)	29(11,7)			
		NA	2	0			
rs1800795	0,43	G/G	106(40,30)	110(44,7)	G	329(62,54)	330(67)
		C/G	117(44,48)	110(44,7)	C	197(37,45)	162(33)
		C/C	40(15,21)	26(10,6)			
		NA	1	2			

1 HWE, Equilibrio de Hardy-Weimberg evaluado en la población control.

Tabla 9. Distribución de las frecuencias genotípicas para los SNP relacionados con citoquinas anti-inflamatorias.

SNP	HWE (p)(1)	Genotipo	Controles n(%)	Casos n(%)	Alelos	Controles n(%)	Casos n(%)
rs1800872	0,13	C/C	155(58,93)	148(59,7)	C	398(75,66)	381(77)
		A/C	88(33,46)	85(34,3)	A	128(24,33)	115(23)
		A/A	20(7,60)	15(6)			
		NA	1	0			
rs1800896	0,53	A/A	92(34,98)	69(27,8)	A	307(58,36)	262(53)
		A/G	123(46,76)	124(50)	G	219(41,63)	234(47)
		G/G	48(18,25)	55(22,2)			
		NA	1	0			

1 HWE, Equilibrio de Hardy-Weimberg evaluado en la población control.

Tabla 10. Distribución de las frecuencias genotípicas para los SNP relacionados con la función endotelial.

SNP	HWE (p)(1)	Genotipo	Controles n(%)	Casos n(%)	Alelos	Controles n(%)	Casos n(%)
rs1042717	0,37	G/G	164(62,12)	144(58,3)	G	413(78,21)	378(77)
		G/A	85(32,19)	90(36,4)	A	115(21,78)	116(23)
		A/A	15(5,7)	13(5,3)			
		NA	0	1			
rs11121816	0,47	T/T	129(49,23)	105(42,5)	G	160(30,53)	175(35)
		G/T	106(40,45)	109(44,1)	T	364(69,46)	319(65)
		G/G	27(10,30)	33(13,4)			
		NA	2	1			
rs4869317	0,48	T/T	124(47,32)	117(47,2)	T	357(68,13)	346(70)
		A/T	109(41,60)	112(45,2)	A	167(31,87)	150(30)
		A/A	29(11,06)	19(7,7)			
		NA	2	0			

1 HWE, Equilibrio de Hardy-Weimberg evaluado en la población control.

6.3 Genotipos y susceptibilidad a la infección

La tabla 11 muestra el análisis multivariante de los factores genéticos asociados con susceptibilidad a la infección.

Al analizar el grupo caso frente al grupo control se encontró que el genotipo A/A del gen de la IL-1B (rs16944), el alelo G del gen de la IL-10 (rs1800896) y el genotipo C/C de

la CRP (rs2794521) se asociaron con una mayor susceptibilidad para desarrollar sepsis (OR de 2,04, 1,35 y 1,94 respectivamente). Estos mismos polimorfismos determinaron una mayor susceptibilidad para desarrollar shock séptico.

Al analizar los SNP de acuerdo al tipo de cirugía se encontró que en el subgrupo de cirugía abdominal el alelo G del gen de la proteína asociada con el receptor tipo 1 de la Angiotensina 2 (AGTRAP, rs11121816, OR = 1,58) y el genotipo C/C del gen de la proteína C reactiva (CRP, rs2794521, OR = 3,96) se asociaron con una mayor susceptibilidad a la sepsis, mientras que los genotipos A/G y G/G en el gen del TLR4 (rs4986790) tuvieron una menor susceptibilidad (OR = 0,28). En los pacientes sometidos a cirugía cardíaca los genotipos A/G y G/G del gen de la IL-10 (rs1800896, OR = 2,02) y el genotipo A/A del CD14 (rs2569190, OR = 1,86) se asociaron con una susceptibilidad aumentada para la sepsis mientras que el genotipo C/C de la IL-6 fue un factor protector (rs1800795; OR = 0,46).

Los portadores del genotipo A/A del gen de la IL-1B (rs16944) y el alelo G del gen de la IL-10 (rs1800896) tuvieron un riesgo incrementado de desarrollar sepsis por neumonía (OR = 2,28 y OR = 1,69 respectivamente).

El riesgo de desarrollar sepsis por peritonitis en los pacientes sometidos a cirugía abdominal aumentó en los portadores de los genotipos C/C del gen de la CRP (rs2794521, OR = 3,40) y G/G del gen de la AGTRAP (rs11121816, OR = 2,64) mientras que los genotipos A/T y T/T del gen que codifica para el TLR2 (rs4696480, OR = 0,42) y A/G y G/G en el gen del TLR4 fueron protectores (rs4986790, OR = 0,31).

Tabla 11. Análisis multivariante de los factores genéticos asociados con susceptibilidad a la infección.

Análisis	Análisis multivariante				
	SNP	Genotipo	OR (IC 95 %)	p	HWE (p)(1)
Controles vs. casos n = 512	rs16944	A/A	2,04 (1,02 - 4,05)	0,039	0,28
	rs2794521	C/C	1,94 (0,99 - 3,83)	0,051	1
	rs1800896	G	1,35 (1,03 - 1,76)	0,026	0,53
Controles vs shock séptico n = 469	rs16944	A/A	2,41 (1,20 - 4,86)	0,012	0,28
	rs1800896	G	1,38 (1,04 - 1,83)	0,024	0,53
	rs2794521	C/C	2,51 (1,27 - 4,98)	0,0074	1
Controles vs. casos de cirugía abdominal n = 257	rs11121816	G	1,58 (1,04 - 2,40)	0,029	0,64
	rs2794521	C/C	3,96 (1,30 - 12,09)	0,009	0,45
	rs4986790	A/G - G/G	0,28 (0,10 - 0,78)	0,011	0,52
Controles vs. casos de cirugía cardíaca n = 255	rs1800896	A/G - G/G	2,02 (1,15 - 3,58)	0,013	0,23
	rs1800795	C/C	0,46 (0,20 - 1,06)	0,057	0,12
	rs2569190	A/A	1,86 (1,03 - 3,34)	0,038	1
Controles vs. casos con neumonía n = 382	rs16944	A/A	2,28 (1,03 - 5,03)	0,043	0,28
	rs1800896	G	1,69 (1,21 - 2,36)	0,0017	0,53
Controles vs casos con peritonitis en cirugía abdominal n = 223	rs11121816	G/G	2,64 (1,05 - 6,63)	0,035	0,64
	rs2794521	C/C	3,40 (1,07 - 10,80)	0,03	0,45
	rs4696480	A/T - T/T	0,42 (0,22 - 0,82)	0,01	0,57
	rs4986790	A/G - G/G	0,31 (0,10 - 0,91)	0,026	0,52

1 HWE, Equilibrio de Hardy-Weimberg en controles.

6.4 Genotipos y mortalidad

Se analizó la mortalidad en dos momentos, uno temprano (en los primeros 28 días) y uno tardío (dentro de los 90 días).

6.4.1 Mortalidad temprana

La tabla 12 muestra el análisis multivariante de los factores genéticos asociados con mortalidad a 28 días en el grupo caso.

Al comparar a los supervivientes frente a los fallecidos en el grupo de casos se encontró que aquellos heterocigotos A/G en el gen del ADRB2 (rs1042717) tuvieron una menor mortalidad (OR = 0,38). En el subgrupo de cirugía cardíaca se encontró una mayor mortalidad en los portadores de los genotipos C/T y T/T del NOD2 (rs2066844, OR = 22,65), C/T y T/T del NFKBIA (rs2233406, OR = 3,33), A/A de la TONSL (rs4925858,

OR = 5,23) y T/T de la TONSL (rs760477, OR = 7,25); en el subgrupo de cirugía abdominal se encontró un efecto protector en los heterocigotos A/G en el gen del ADRB2 (rs1042717, OR = 0,33) así como para los portadores A/G y A/A del gen de la IL-1B (rs16944, OR = 0,36).

Tabla 12. Análisis multivariante de los factores genéticos asociados con mortalidad a 28 días.

Análisis	Análisis multivariante				
	SNP	Genotipo	OR (IC 95 %)	p	HWE (p)(1)
Casos n = 248	rs1042717	A/G	0,38 (0,20 - 0,72)	0,0022	0,31
Cirugía cardíaca n = 103	rs2066844	C/T - T/T	22,65 (3,04 - 168,83)	0,0008	1
	rs2233406	C/T - T/T	3,33 (1,03 - 10,75)	0,035	0,56
	rs4925858	A/A	5,23 (1,48 - 18,47)	0,0088	0,49
	rs760477	T/T	7,25 (1,97 - 26,71)	0,0017	1
Cirugía abdominal n = 145	rs1042717	A/G	0,33 (0,14 - 0,74)	0,0056	0,79
	rs16944	A/G - A/A	0,36 (0,17 - 0,77)	0,0066	0,48
Shock séptico n = 205	rs1042717	A/G	0,37 (0,19 - 0,76)	0,0047	0,34
	rs1800795	C/C	3,23 (1,09 - 9,56)	0,032	0,52
	rs2233406	C/T - T/T	2,38 (1,21 - 4,68)	0,01	0,23
Neumonía n = 118	rs1042717	A/G	0,12 (0,03 - 0,45)	0,0003	0,77
	rs2066844	C/T	4,22 (1,04 - 17,12)	0,042	1
	rs2794521	C/T	0,32 (0,11 - 0,92)	0,027	1
	rs4986790	A/G	7,27 (1,53 - 34,64)	0,011	0,13
	rs4986791	C/T	7,27 (1,53 - 34,64)	0,011	0,13
Peritonitis en cirugía abdominal n = 111	rs16944	A/G - A/A	0,34 (0,14 - 0,81)	0,013	1
	rs1042717	A/G	0,28 (0,11 - 0,74)	0,0071	0,76

1 HWE, Equilibrio de Hardy-Weimberg en controles.

En los pacientes con shock séptico los heterocigotos A/G del gen del ADRB2 (rs1042717) tuvieron una menor mortalidad (OR = 0,37) mientras que los pacientes homocigotos para el alelo C del gen de la IL-6 (rs1800795) y los portadores del alelo T del gen del NFKBIA (rs2233406) tuvieron una mayor mortalidad (OR = 3,23 y 2,38 respectivamente).

En los pacientes afectados de neumonía tuvieron pronóstico favorable los portadores A/G del ADRB2 (rs1042717, OR = 0,12) y C/T del gen de la CRP (rs2794521, OR = 0,32)

y desfavorable los heterocigotos C/T del NOD2 (rs2066844, OR = 4,22) y A/G y C/T del TLR4 (rs4986790 y rs4986791, OR = 7,27).

Los pacientes portadores del alelo A del gen de la IL-1B (rs16944) y los heterocigotos A/G del gen del ADRB2 (rs1042717) tuvieron una menor mortalidad por peritonitis (OR = 0,34 y 0,28 respectivamente).

6.4.2 Mortalidad tardía

La tabla 13 muestra el análisis multivariante de los factores genéticos asociados con mortalidad a 90 días en el grupo caso.

Tres genotipos se asociaron con un pronóstico favorable en los casos: A/G del ADRB2 (rs1042717; OR = 0,56), A/G y A/A de la MBL2 (rs1800450, OR = 0,50) y A de la IL-10 (rs1800872; OR = 0,50).

En cirugía cardíaca los genotipos A/G y A/A del gen del ADRB2 se relacionaron con una menor mortalidad (rs1042717, OR = 0,33) mientras que los portadores A/G y A/A del gen de la IL-1B (rs16944; OR = 3,84), C/T y T/T del gen del NOD2 (rs2066844; OR = 5,95) A/A y T/T de la TONSL (rs4925858, OR = 5,09 y rs760477, OR = 6,74) tuvieron una mayor mortalidad.

En cirugía abdominal el genotipo A/G y A/A del gen de la MBL2 (rs1800450, OR = 0,40) y el alelo A del gen de la IL-10 (rs1800872, OR = 0,43) fueron factores asociados con una menor mortalidad.

Las variantes A/G y A/A de la MBL2 (rs1800450, OR = 0,43) y el alelo A de la IL-10 (rs1800872, OR = 0,47) determinaron una menor mortalidad en los pacientes con shock séptico. Las variantes C/T y T/T del NFKBIA (rs2233406; OR = 2,27) se relacionaron con una mayor mortalidad.

Los pacientes heterocigotos A/G en el gen del ADRB2 (rs1042717, OR = 0,25), así como los portadores de las variantes A/G y A/A de la MBL2 (rs1800450, OR = 0,25) y los heterocigotos C/T del gen de la CRP (rs2794521, OR = 0,31) tuvieron un mejor

pronóstico en el caso de la infección por neumonía, mientras que aquellos portadores de las variantes A/A del gen de la IL-1B (rs16944, OR = 4,57) y A/G y C/T del gen del TLR4 (rs4986790 y rs4986791, OR = 4,79) tuvieron una mayor mortalidad.

En el caso de peritonitis en cirugía abdominal los portadores A/G y A/A del gen MBL2 (rs1800450) y A/C y A/A del gen de la IL-10 (rs1800872) tuvieron una menor mortalidad (OR = 0,23 y 0,33 respectivamente).

Tabla 13. Análisis multivariante de los factores genéticos asociados con mortalidad a 90 días.

Análisis	Análisis multivariante				
	SNP	Genotipo	OR (IC 95 %)	p	HWE (p)(1)
Casos n = 248	rs1042717	A/G	0,56 (0,31 - 0,99)	0,046	0,34
	rs1800450	A/G - A/A	0,50 (0,26 - 0,96)	0,034	0,25
	rs1800872	A	0,50 (0,30 - 0,81)	0,004	0,67
Cirugía cardíaca n = 103	rs1042717	A/G - A/A	0,33 (0,12 - 0,95)	0,033	0,49
	rs16944	A/G - A/A	3,84 (1,34 - 11,00)	0,0085	1
	rs2066844	C/T - T/T	5,95 (1,14 - 31,18)	0,029	1
	rs4925858	A/A	5,09 (1,53 - 16,94)	0,0056	0,45
	rs760477	T/T	6,74 (1,98 - 22,9)	0,0011	1
Cirugía abdominal n = 145	rs1800450	A/G - A/A	0,40 (0,17 - 0,93)	0,031	0,71
	rs1800872	A	0,43 (0,23 - 0,81)	0,0068	1
Shock séptico n = 205	rs1800450	A/G - A/A	0,43 (0,21 - 0,90)	0,022	0,3
	rs1800872	A	0,47 (0,27 - 0,81)	0,0056	0,81
	rs2233406	C/T - T/T	2,27 (1,19 - 4,35)	0,012	0,27
Neumonía n = 118	rs1042717	A/G	0,25 (0,09 - 0,69)	0,0044	0,74
	rs16944	A/A	4,57 (1,19 - 17,58)	0,02	1
	rs1800450	A/G - A/A	0,25 (0,08 - 0,78)	0,012	0,39
	rs2794521	C/T	0,31 (0,12 - 0,78)	0,0096	0,55
	rs4986790	A/G	4,79 (1,05 - 21,82)	0,036	0,11
	rs4986791	C/T	4,79 (1,05 - 21,82)	0,036	0,11
Peritonitis en cirugía abdominal n = 111	rs1800450	A/G - A/A	0,23 (0,07 - 0,71)	0,0069	0,67
	rs1800872	A/C - A/A	0,33 (0,13 - 0,83)	0,016	0,74

1 HWE, Equilibrio de Hardy-Weimberg en controles.

6.5 Análisis de supervivencia

De los 248 pacientes 116 (46,8 %) fallecieron, con una media de supervivencia de 57 días (IC 95 % = 52,9 - 62,2). A los 28 días los pacientes heterocigotos A/G para el gen ADRB2 (rs1042717, figura 5 y tabla 14) tuvieron una reducción del riesgo de muerte con un hazard ratio (HR) de 0,6 (IC 95 % = 0,36 - 0,99, $p = 0,047$). A los 90 días los portadores del genotipo A/C y A/A del gen de la IL-10 (rs1800872) tuvieron una reducción del riesgo de muerte con un HR de 0,8 (IC 95 % = 0,66 - 0,98) y una $p = 0,032$ con respecto a los portadores del genotipo C/C (figura 6 y tabla 15). No se encontraron diferencias significativas para los demás riesgos relativos entre el resto de los polimorfismos estudiados.

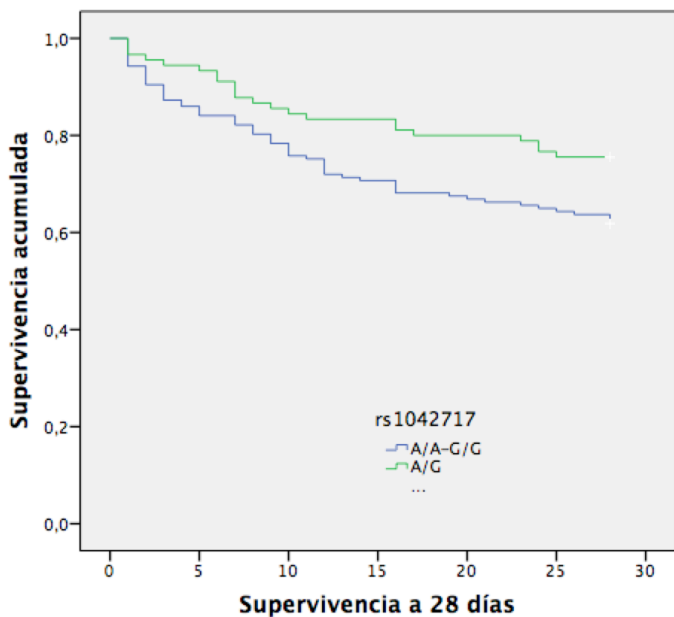


Figura 5. Curva de Kaplan Meier para el gen ADRB2 (log rank = 4,86 $p = 0,027$).

Tabla 14. Modelo de Cox para supervivencia a 28 días con rs1042717.

Variables	p	HR	IC 95 %	
			Límite inferior	Límite superior
ADRB2 (rs1042717)	0,05	0,60	0,36	0,99
Tipo de cirugía	0,10	0,66	0,40	1,09
Sexo	0,61	0,89	0,55	1,42
Edad	0,09	1,02	1,00	1,05
IRC	0,02	0,51	0,29	0,91
CRP	0,05	1,00	1,00	1,00
Lactato	<0,001	1,01	1,00	1,02
APACHEII	0,01	1,06	1,01	1,11

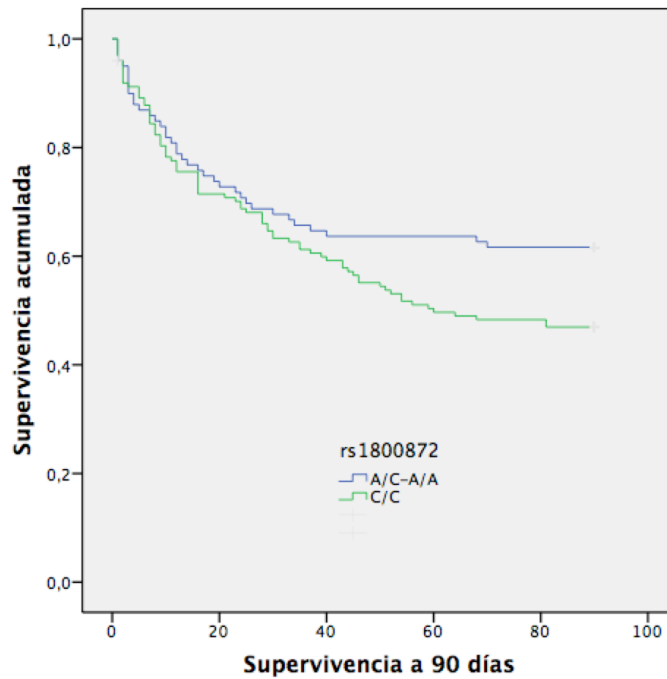


Figura 6. Curva de Kaplan Meier para el gen de la IL-10 (Log Rank = 3,67 p = 0,055)

Tabla 15. Modelo de Cox para supervivencia a 90 días con rs1800872.

Variables	p	HR	IC 95 %	
			Límite inferior	Límite superior
IL-10 (rs1800872)	0,03	0,80	0,66	0,98
APACHEII	0,01	1,05	1,01	1,10
Lactato	<0,001	1,01	1,00	1,01
CRP	0,01	1,00	1,00	1,00
IRC	0,01	0,52	0,32	0,86
Sexo	0,71	0,93	0,63	1,37
Edad	0,03	1,02	1,00	1,04
Tipo de cirugía	0,04	0,64	0,42	0,98

6.6 Modelos pronósticos preoperatorios de susceptibilidad a la infección

6.6.1 Modelo pronóstico para el desarrollo de sepsis

En primer lugar se realizó un análisis de regresión logística binaria (método de Wald) el cual mostró que la HTA, la IRC, la DM2 y el antecedente de neoplasia fueron las variables clínicas preoperatorias más importantes en la susceptibilidad a la sepsis (AUC = 0,62; $p < 0,001$; IC 95 % = 0,57 - 0,67). Se calculó entonces el área bajo la curva para cada uno de los polimorfismos relacionados con la probabilidad de desarrollar sepsis en el análisis multivariante. La combinación de estos tres SNP (IL-10 rs1800896, IL-1B rs16944 y CRP rs2794521) tuvo como resultado un incremento en la capacidad predictora con respecto a cada SNP por separado (AUC = 0,59 $p < 0,001$; IC 95 % = 0,54 - 0,64). En tercer lugar combinamos la curva ROC del modelo clínico con la curva ROC obtenida de los tres SNP, con lo que se evidenció una mejoría de la capacidad pronóstica (AUC = 0,67; $p < 0,001$; IC 95 % = 0,62 - 0,72).

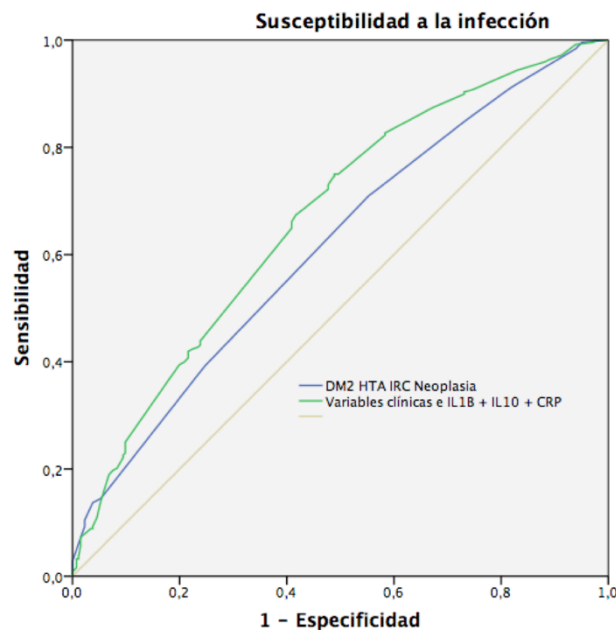


Figura 7. Curva ROC para susceptibilidad a la sepsis.

6.6.2 Modelo pronóstico para el desarrollo de shock séptico

El modelo prequirúrgico que mejor predijo la susceptibilidad para desarrollar shock séptico incluyó a la HTA, la IRC y el antecedente de neoplasia (AUC = 0,61, $p < 0,001$, IC 95 % = 0,56 - 0,66). El valor pronóstico de dicho modelo aumentó al añadirse los polimorfismos de los genes de la IL-10 (rs1800896), la IL-1B (rs16944) y la CRP (rs2794521) aumentando su AUC a 0,68 ($p < 0,001$, IC 95 % = 0,63 - 0,73).

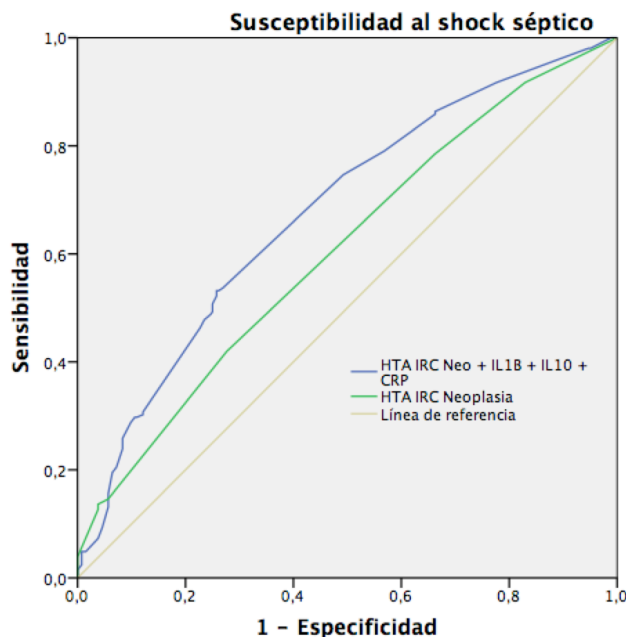


Figura 8. Curva ROC para susceptibilidad al shock séptico.

6.6.3 Modelo pronóstico de sepsis en cirugía abdominal

La curva ROC para los tres polimorfismos asociados con susceptibilidad a la infección en cirugía abdominal (CRP rs2794521, TLR4 4986790 y AGTRAP rs11121816) tuvo una capacidad para identificar a los pacientes que desarrollaron sepsis con un AUC de 0,62 ($p < 0,001$; IC 95 % = 0,55 - 0,69). El modelo prequirúrgico en este caso tuvo un AUC de 0,74 ($p < 0,001$; IC 95 % = 0,68 - 0,80). Al añadirse los polimorfismos descritos al modelo prequirúrgico se mejoró la capacidad de predicción de sepsis con una AUC de 0,77 ($p < 0,001$; IC 95 % = 0,71 - 0,83).

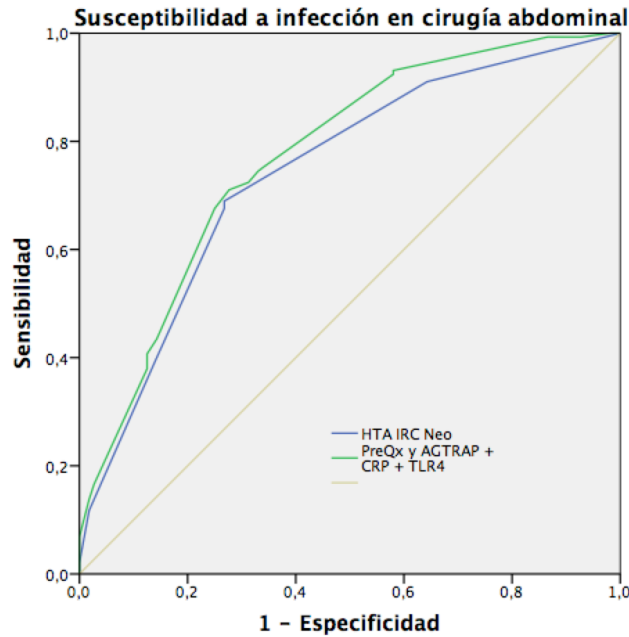


Figura 9. Curva ROC para susceptibilidad a la sepsis en cirugía abdominal.

6.6.4 Modelo pronóstico de sepsis en cirugía cardíaca

En el caso de la cirugía cardíaca, los SNP en los genes de la IL-6 (rs1800795), la IL-10 (rs1800896) y el CD14 (rs2569190) tuvieron un área bajo la curva de 0,64 ($p < 0,001$; IC 95 % = 0,57 - 0,70). El modelo clínico con las variables prequirúrgicas tuvo un AUC de 0,60 ($p < 0,001$; IC 95 % = 0,53 - 0,67). Al añadir a este modelo los polimorfismos descritos encontramos una mejoría en la capacidad predictora con un AUC de 0,67 ($p < 0,001$; IC 95 % = 0,61 - 0,74).

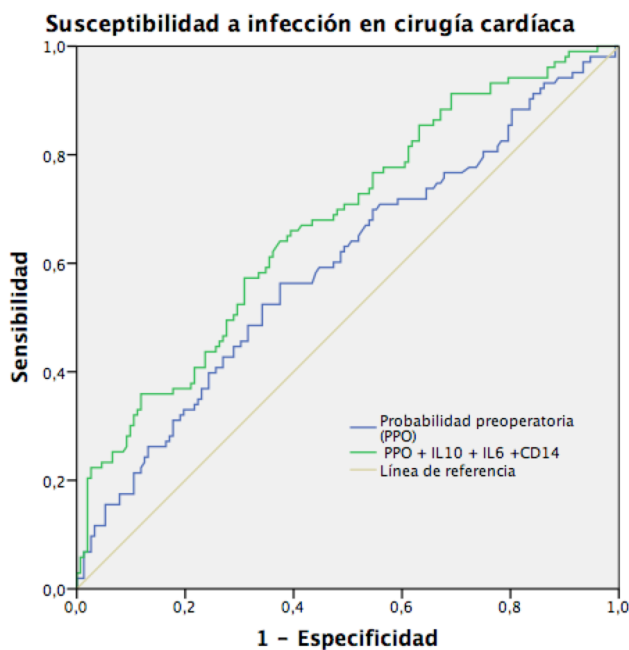


Figura 10. Curva ROC para susceptibilidad a la sepsis en cirugía cardíaca.

6.6.5 Modelo pronóstico de sepsis por neumonía

Los SNP implicados en susceptibilidad a desarrollar neumonía fueron los de la IL-1B (rs16944) y la IL-10 (rs1800896). En conjunto tuvieron un AUC de 0,59 ($p < 0,001$; IC 95 % = 0,53 - 0,65). Se objetivaron como principales predictores clínicos la IRC y el antecedente de neoplasia (AUC = 0,62, $p < 0,001$, IC 95 % = 0,56 - 0,68). La incorporación de los polimorfismos descritos al modelo clínico mejoró la capacidad predictora (AUC = 0,68, $p < 0,001$, IC 95 % = 0,63 - 0,74).

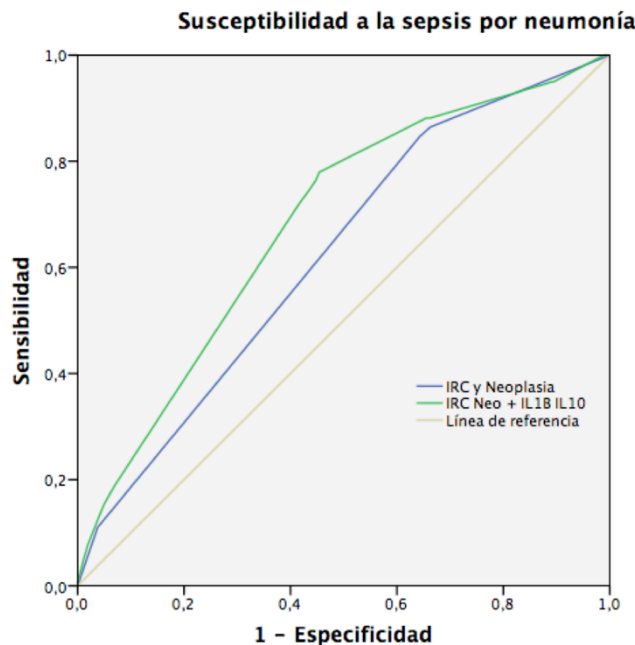


Figura 11. Curva ROC para susceptibilidad a la sepsis por neumonía.

6.6.6 Modelo pronóstico de sepsis por peritonitis en cirugía abdominal

En conjunto, los polimorfismos en los genes de la AGTRAP (rs11121816), la CRP (rs2794521), el TLR2 (rs4696480) y el TLR4 (rs4986790) tuvieron un buen rendimiento para predecir el desarrollo de sepsis por peritonitis en cirugía abdominal (AUC = 0,65).

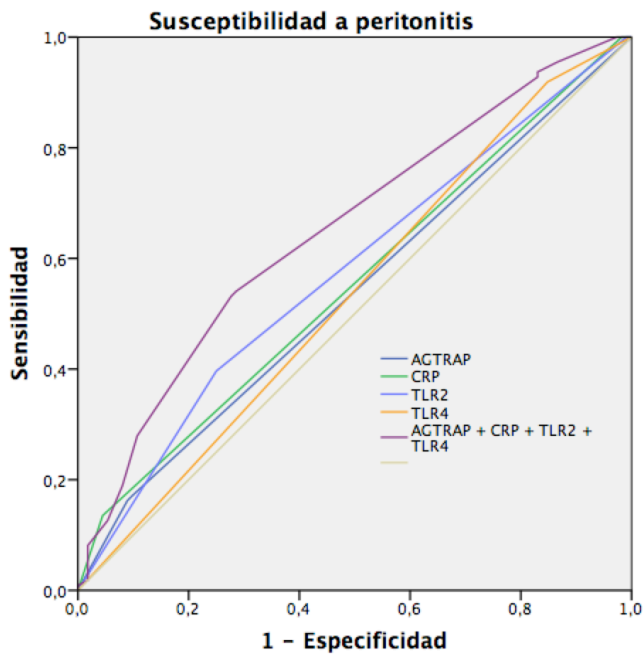


Figura 12. Curva ROC para los SNP implicados en la susceptibilidad para sepsis por peritonitis.

Tabla 16. SNP implicados en la susceptibilidad para sepsis por peritonitis. Valores para la curva ROC.

SNP	AUC	p	IC 95 %	
			Límite inferior	Límite superior
AGTRAP	0,54	0,34	0,46	0,61
CRP	0,55	0,17	0,48	0,63
TLR2	0,58	0,05	0,50	0,65
TLR4	0,54	0,36	0,46	0,61
AGTRAP + CRP + TLR2 + TLR4	0,65	<0,001	0,58	0,72

El uso de estos polimorfismos mejoró significativamente la capacidad pronóstica del modelo preoperatorio que incluyó a la HTA, la IRC y el antecedente de neoplasia (AUC = 0,80).

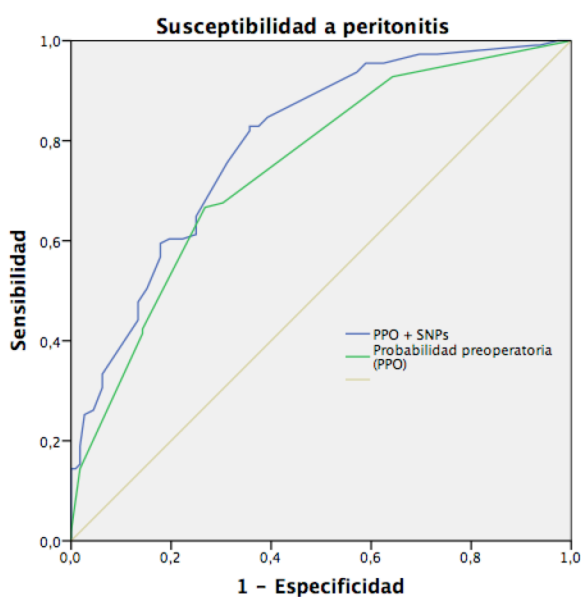


Figura 13. Curva ROC para susceptibilidad a peritonitis.

Tabla 17. Susceptibilidad para peritonitis. Valores para la curva ROC.

Modelo	AUC	p	IC 95 %	
			Límite inferior	Límite superior
Probabilidad preoperatoria (PPO)	0,74	<0,001	0,68	0,81
PPO + AGTRAP + CRP + TLR2 + TLR4	0,80	<0,001	0,74	0,85

6.7 Modelos de predicción de mortalidad temprana

6.7.1 Modelo de predicción de mortalidad temprana por sepsis.

Las variables predictoras de mortalidad a 28 días fueron la DM, la IRC, el lactato y el APACHE II (AUC = 0,75). La heterocigocidad A/G en el gen del ADRB2 (rs1042717) tuvo un efecto favorable sobre la capacidad predictora del modelo clínico.

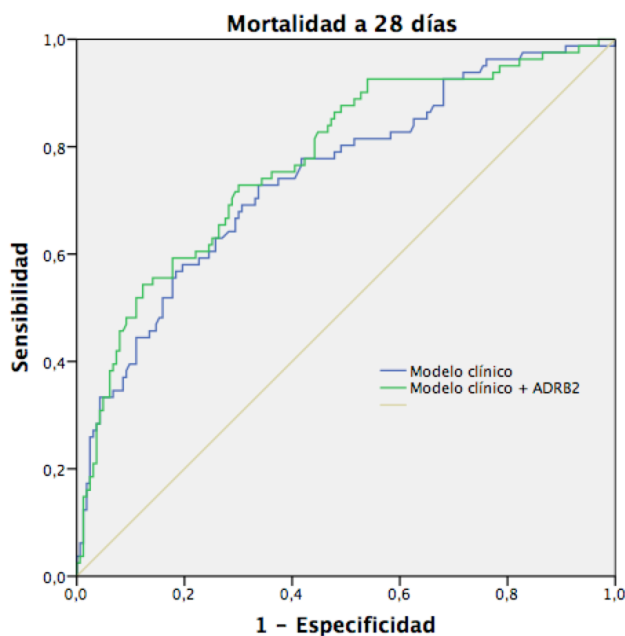


Tabla 18. Mortalidad a 28 días por sepsis. Valores para la curva ROC.

Modelo	AUC	p	IC 95 %	
			Límite inferior	Límite superior
DM +IRC + Lactato + APACHE	0,75	<0,001	0,68	0,81
Modelo clínico + ADRB2	0,78	<0,001	0,71	0,84

Figura 14. Curva ROC para mortalidad a 28 días por sepsis.

6.7.2 Modelo de predicción de mortalidad temprana por shock séptico

En el caso del shock séptico la combinación de los SNP de los genes del ADRB2 (rs1042717), la IL-6 (rs1800795) y el NFKBIA (rs2233406) permitió diferenciar el grupo de supervivientes de los fallecidos (AUC = 0,63, p = 0,002, IC 95 % = 0,55 - 0,71). Añadir los SNP al modelo de predicción clínico dio como resultado una mejoría en la capacidad discriminatoria con un AUC de 0,80.

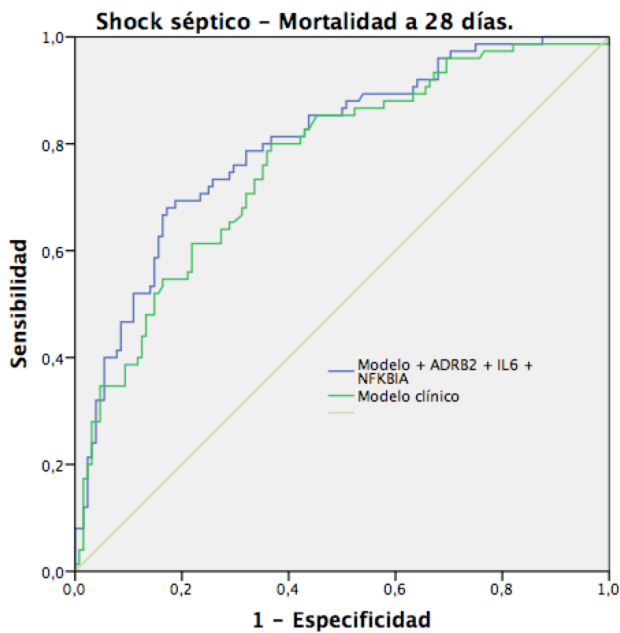


Tabla 19. Mortalidad a 28 días por shock séptico. Valores para la curva ROC.

Modelo	AUC	p	IC 95 %	
			Límite inferior	Límite superior
Diabetes + IRC + Lactato + APACHE	0,76	<0,001	0,70	0,83
Modelo clínico + ADRB2 + IL-6 + NFKBIA	0,80	<0,001	0,74	0,86

Figura 15. Curva ROC para mortalidad a 28 días por shock séptico.

6.7.3 Modelo de predicción de mortalidad temprana en cirugía cardíaca

En cirugía cardíaca cuatro polimorfismos en los genes del NOD2 (rs2066844), NFKBIA (rs2233406) y TONSL (rs4925858 y rs760477) se relacionaron con una mayor mortalidad por sepsis.

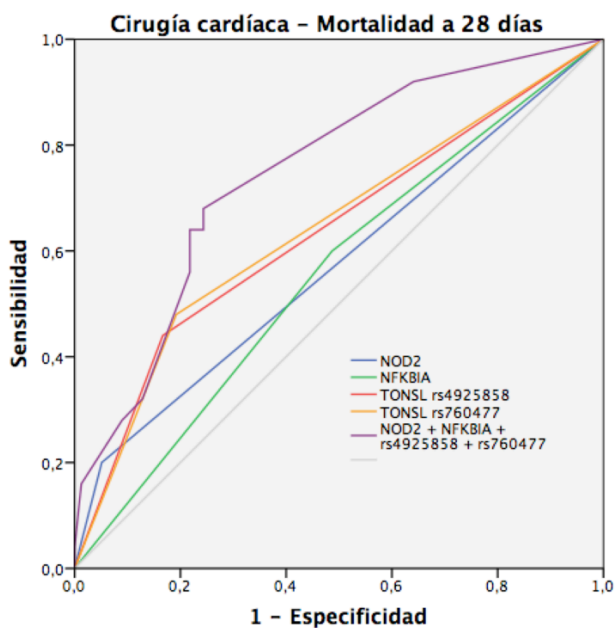


Tabla 20. SNP implicados en la mortalidad a 28 días por sepsis en cirugía cardíaca. Valores para la curva ROC.

SNP	AUC	p	IC 95 %	
			Límite inferior	Límite superior
NOD2	0,57	0,26	0,44	0,71
NFKBIA	0,56	0,4	0,43	0,69
TONSL rs4925858	0,64	0,04	0,50	0,77
TONSL rs760477	0,64	0,03	0,51	0,78
NOD2 + NFKBIA + TONSL (rs4925858, rs760477)	0,75	<0,001	0,64	0,86

Figura 16. Curvas ROC para los SNP implicados en la mortalidad a 28 días por sepsis en cirugía cardíaca.

Utilizando estos cuatro polimorfismos se observó una notoria mejoría del modelo clínico de predicción de mortalidad en los primeros 28 días tras cirugía cardíaca (AUC = 0,90).

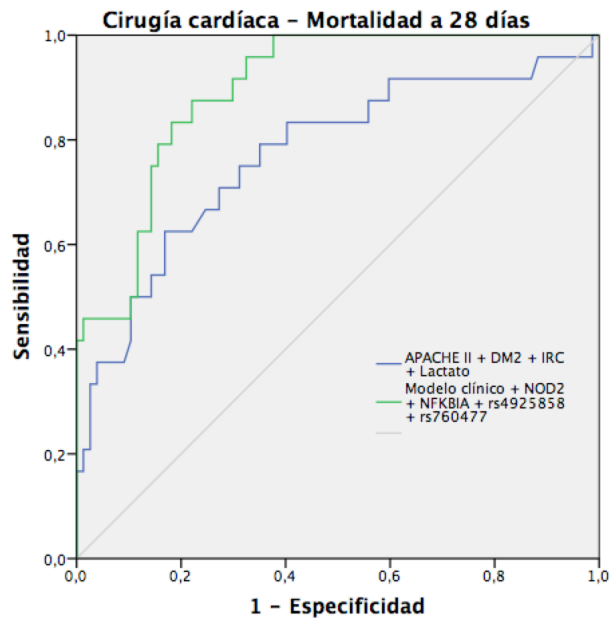


Tabla 21. Mortalidad a 28 días por sepsis en cirugía cardíaca. Valores para la curva ROC.

Modelo	AUC	p	IC 95 %	
			Límite inferior	Límite superior
APACHE II + DM + IRC + lactato	0,77	<0,001	0,65	0,89
Modelo clínico + NOD2 + NFKBIA + TONSL (rs4925858, rs760477)	0,90	<0,001	0,84	0,96

Figura 17. Curva ROC para mortalidad a 28 días por sepsis en cirugía cardíaca.

6.7.4 Modelo de predicción de mortalidad temprana en cirugía abdominal

En cirugía abdominal, la adición de los polimorfismos del ADRB2 (rs1042717) y la IL-1B (rs16944) a la curva ROC del mejor modelo clínico (DM, IRC, lactato) resultó en un aumento del AUC.

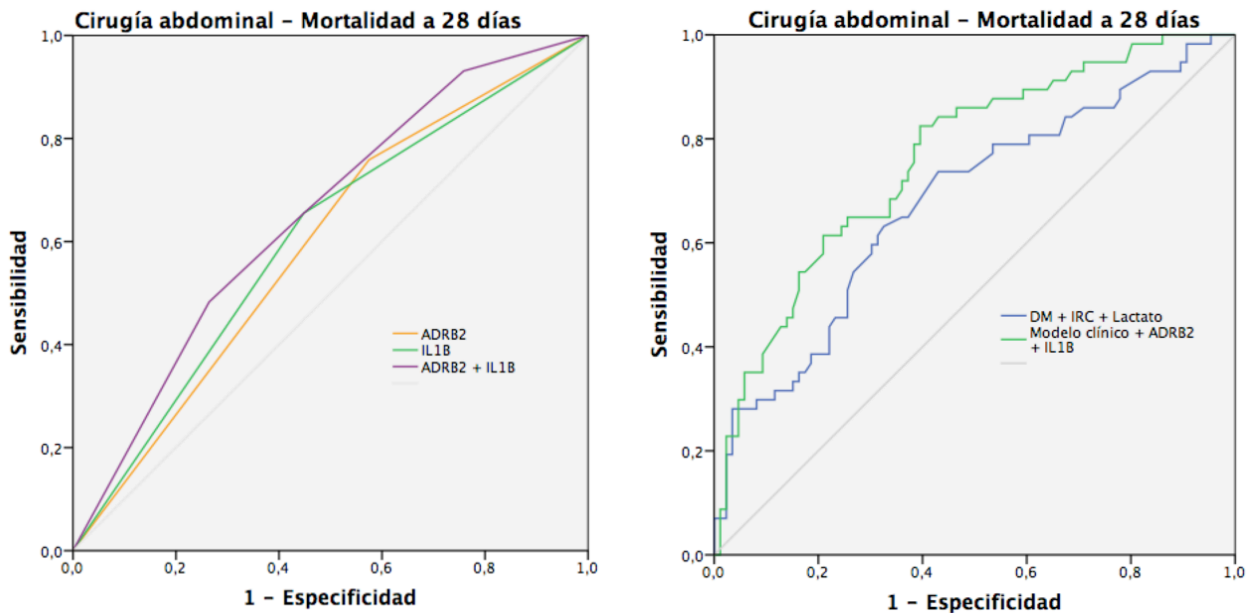


Figura 18. Curvas ROC para mortalidad a 28 días por sepsis en cirugía abdominal.

Tabla 22. SNP implicados en la mortalidad a 28 días por sepsis en cirugía abdominal. Valores para la curva ROC.

SNP	AUC	p	IC 95 %	
			Límite inferior	Límite superior
ADRB2	0,59	0,06	0,50	0,69
IL-1B	0,60	0,04	0,51	0,70
ADRB2 + IL-1B	0,65	<0,001	0,56	0,74

Tabla 23. Mortalidad a 28 días por sepsis en cirugía abdominal. Valores para la curva ROC.

Modelo	AUC	p	IC 95 %	
			Límite inferior	Límite superior
DM + IRC + Lactato	0,68	<0,001	0,59	0,77
Modelo clínico + ADRB2 + IL-1B	0,76	<0,001	0,68	0,84

6.7.5 Modelo de predicción de mortalidad temprana en sepsis por neumonía

Los polimorfismos en 5 genes (ADRB2 rs1042717, CRP rs2794521, NOD2 rs2066844 y TLR4 rs4986790 y rs4986791) que determinaron un cambio en la mortalidad en el caso de la neumonía tuvieron en conjunto un AUC de 0,69 para discriminar entre fallecidos y supervivientes. La curva ROC del modelo clínico por si mismo tuvo un AUC de 0,77 y al añadirse los SNP se obtuvo una mejoría en la capacidad discriminadora del modelo con un AUC de 0,84.

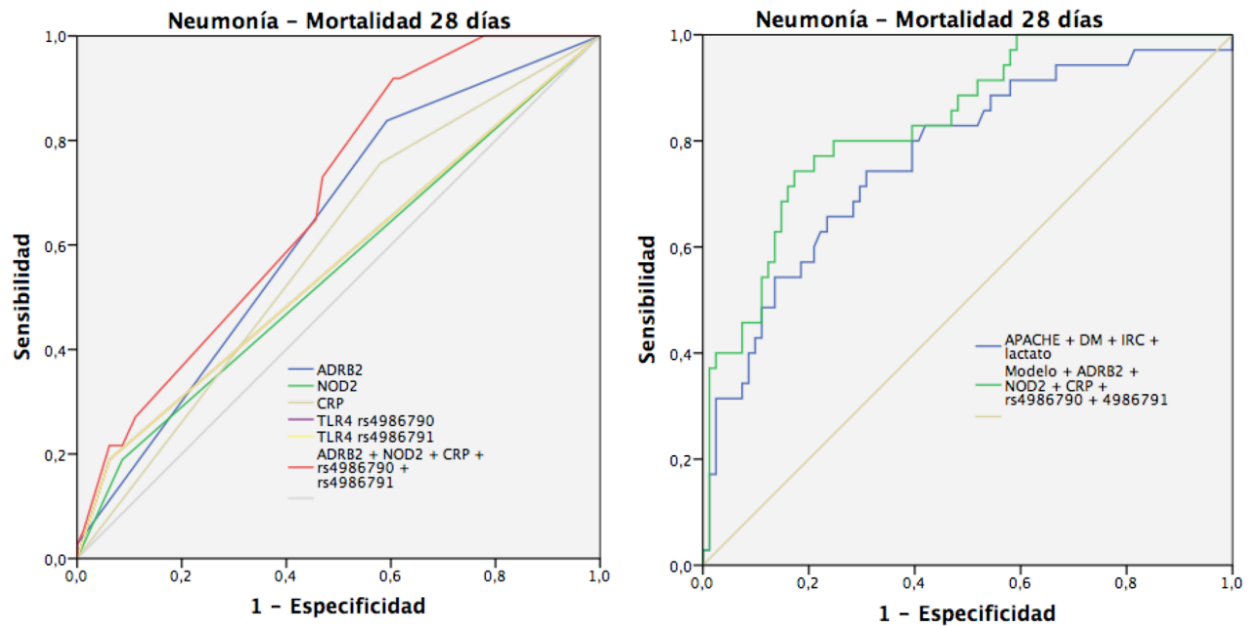


Figura 19. Curvas ROC para mortalidad a 28 días en sepsis por neumonía.

Tabla 24. SNP implicados en la mortalidad a 28 días en sepsis por neumonía. Valores para la curva ROC.

SNP	AUC	p	IC 95 %	
			Límite inferior	Límite superior
ADRB2	0,63	0,02	0,53	0,74
NOD2	0,55	0,37	0,44	0,67
CRP	0,59	0,12	0,48	0,7
TLR4 rs4986790	0,56	0,27	0,45	0,68
TLR4 rs4986791	0,56	0,27	0,45	0,68
ADRB2 + NOD2 + CRP + TLR4 (rs4986790, rs4986791)	0,69	<0,001	0,59	0,78

Tabla 25. Mortalidad a 28 días en sepsis por neumonía. Valores para la curva ROC.

Modelo	AUC	p	IC 95 %	
			Límite inferior	Límite superior
APACHE + DM + IRC + lactato	0,77	<0,001	0,67	0,86
Modelo clínico + ADRB2 + NOD2 + CRP + TLR4 (rs4986790, rs4986791)	0,84	0,001	0,76	0,91

6.7.6 Modelo de predicción de mortalidad temprana en sepsis por peritonitis

Los polimorfismos en los genes de la IL-1B (rs16944) y del ADRB2 (rs1042717) predijeron la mortalidad por peritonitis en cirugía abdominal con un AUC de 0,65. Cuando se añadieron al modelo clínico aumentó la capacidad pronóstica a un AUC de 0,79.

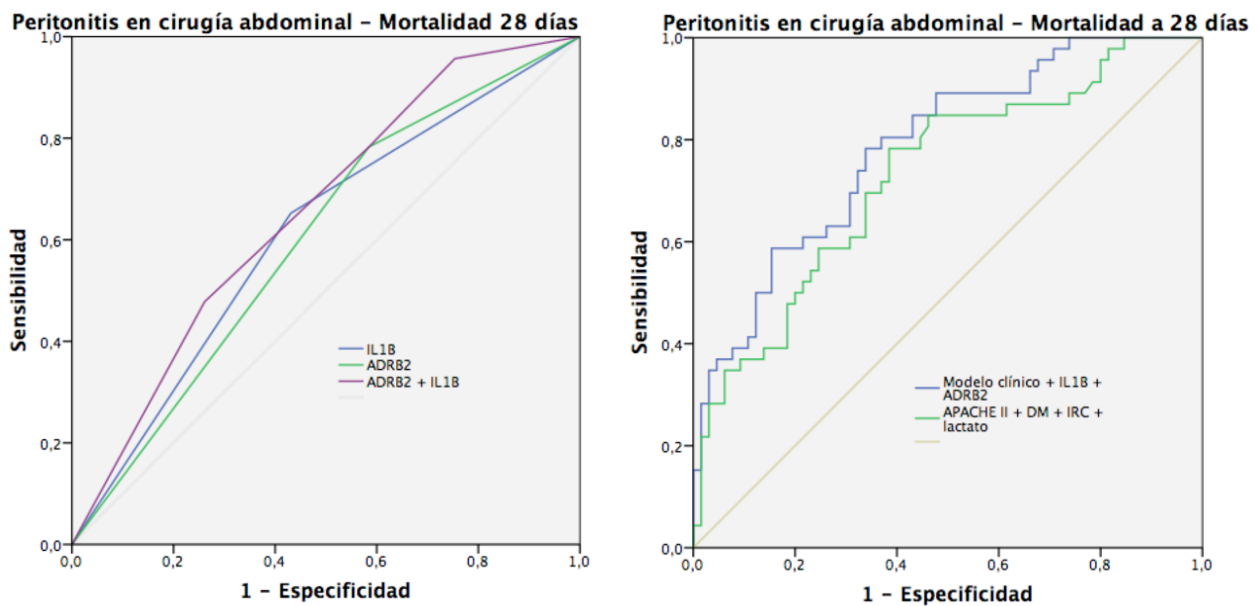


Figura 20. Curvas ROC para mortalidad a 28 días en sepsis por peritonitis.

Tabla 26. SNP implicados en la mortalidad a 28 días en sepsis por peritonitis. Valores para la curva ROC.

SNP	AUC	p	IC 95 %	
			Límite inferior	Límite superior
IL-1B	0,61	0,05	0,50	0,72
ADRB2	0,60	0,08	0,49	0,70
ADRB2 + IL-1B	0,65	0,01	0,55	0,76

Tabla 27. Mortalidad a 28 días en sepsis por peritonitis. Valores para la curva ROC.

Modelo	AUC	p	IC 95 %	
			Límite inferior	Límite superior
Modelo + IL-1B + ADRB2	0,79	<0,001	0,70	0,87
APACHE II + DM + IRC + Lactato	0,73	<0,001	0,63	0,82

Modelos de predicción de mortalidad tardía

6.8.1 Modelo de predicción de mortalidad tardía por sepsis.

La combinación de los polimorfismos en los genes del ADRB2 (rs1042717), MBL2 (rs1800450) e IL-10 (rs1800872) tuvo una capacidad predictora con un AUC de 0,62 para mortalidad en sepsis por cualquier causa ($p < 0,001$; IC 95 % = 0,56 – 0,69). El mejor modelo clínico tuvo un AUC de 0,79 que se incrementó hasta 0,83 tras añadirse los tres SNP.

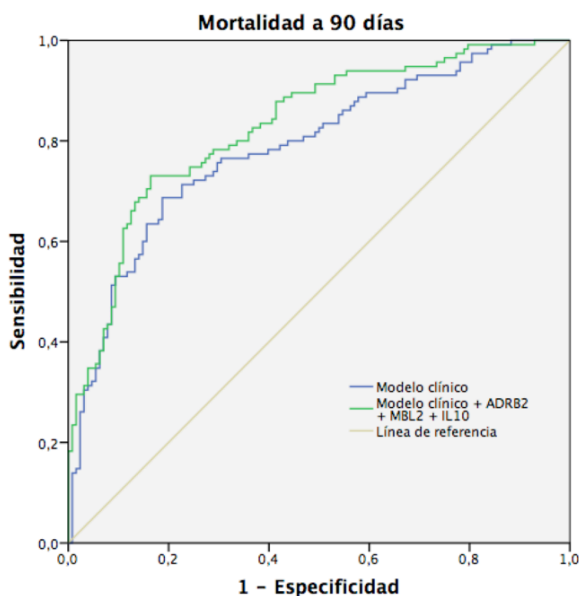


Figura 21. Curva ROC para mortalidad a 90 días por sepsis.

Tabla 28. Mortalidad a 90 días por sepsis. Valores para la curva ROC.

Modelo	AUC	p	IC 95 %	
			Límite inferior	Límite superior
Tipo de cirugía + Edad + IRC + Obesidad + Lactato + CRP + SOFA	0,79	<0,001	0,73	0,85
Modelo + ADRB2 + MBL2 + IL-10	0,83	<0,001	0,78	0,88

6.8.2 Modelo de predicción de mortalidad tardía por shock séptico

La combinación de los valores predictores de los SNP en genes de la MBL2 (rs1800450), la IL-10 (rs1800872) y el NFKBIA (rs2233406) tuvo un AUC de 0,61 ($p = 0,004$; IC 95 % = 0,54 - 0,69). El modelo clínico (tipo de cirugía, edad, IRC, obesidad, lactato, CRP y SOFA) predijo la mortalidad del shock séptico con un AUC de 0,78. La curva ROC combinada del modelo clínico y los SNP aumentó el AUC a 0,82.

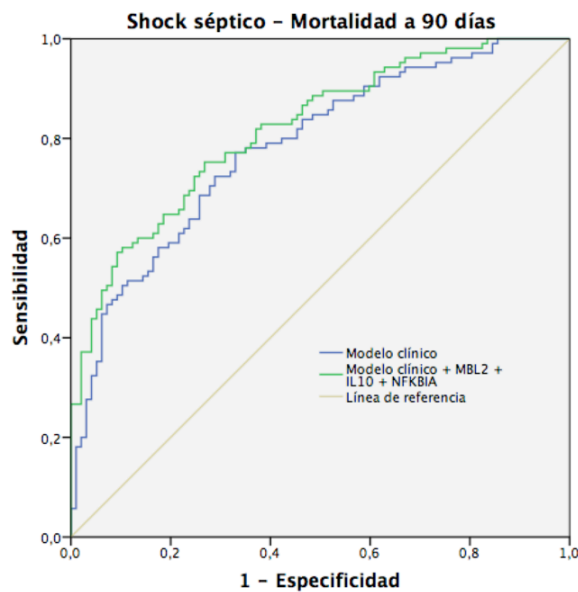


Tabla 29. Mortalidad a 90 días por shock séptico. Valores para la curva ROC.

Modelo	AUC	p	IC 95 %	
			Límite inferior	Límite superior
Modelo clínico	0,78	<0,001	0,72	0,85
Modelo clínico + MBL2 + IL-10 + NFKBIA	0,82	<0,001	0,76	0,87

Figura 22. Curvas ROC para mortalidad a 90 días por shock séptico.

6.8.3 Modelo de predicción de mortalidad tardía en cirugía cardíaca

La combinación de las variantes en los genes del ADRB2 (rs1042717), IL-1B (rs16944), NOD2 (rs2066844) y TONSL (rs4925858 y rs760477) predijo la mortalidad de los pacientes de cirugía cardíaca con un AUC de 0,74. La curva ROC combinada para el modelo clínico (APACHE y lactato) y los SNP tuvo una capacidad predictora mayor con un AUC de 0,81.

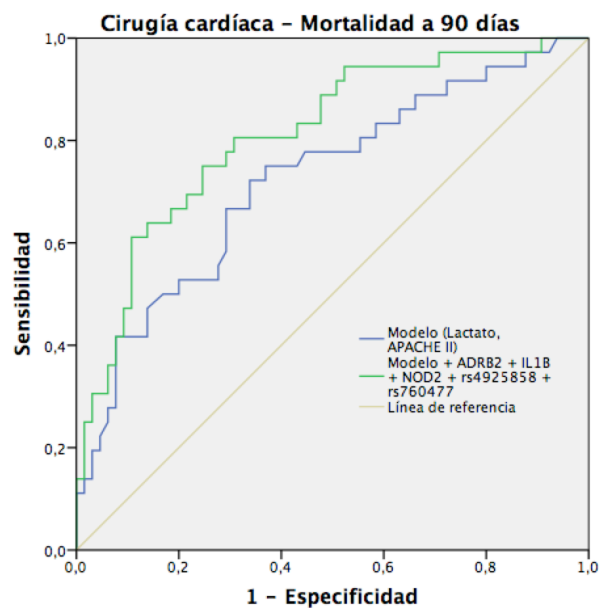
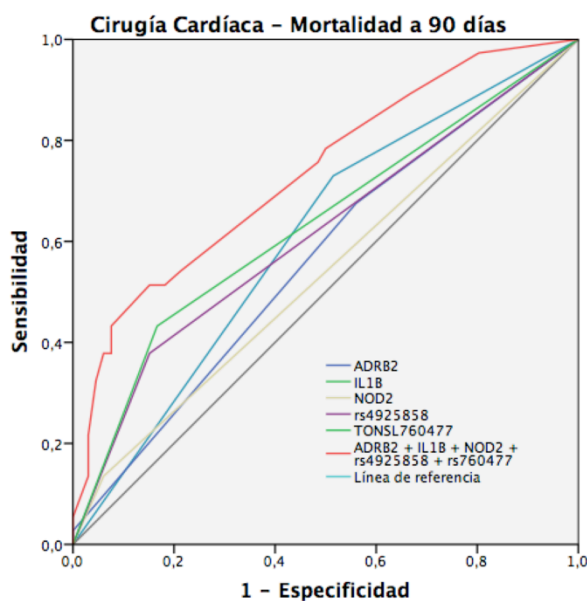


Figura 23. Curvas ROC para mortalidad a 90 días por sepsis en cirugía cardíaca.

Tabla 30. SNP implicados en la mortalidad a 90 días por sepsis en cirugía cardíaca. Valores para la curva ROC.

SNP	AUC	p	IC 95 %	
			Límite inferior	Límite superior
ADRB2	0,57	0,27	0,45	0,68
IL-1B	0,61	0,07	0,50	0,72
NOD2	0,54	0,53	0,42	0,66
TONSL rs4925858	0,61	0,06	0,50	0,73
TONSL rs760477	0,63	0,03	0,52	0,75
ADRB2 + IL-1B + NOD2 + TONSL (rs4925858, rs760477)	0,74	<0,001	0,63	0,84

Tabla 31. Mortalidad a 90 días por sepsis en cirugía cardíaca. Valores para la curva ROC.

Modelo	AUC	p	IC 95 %	
			Límite inferior	Límite superior
Modelo (Lactato + APACHE)	0,72	<0,001	0,62	0,83
Modelo + ADRB2 + IL-1B + NOD2 + TONSL (rs4925858, rs760477)	0,81	<0,001	0,72	0,90

6.8.4 Modelo de predicción de mortalidad tardía en cirugía abdominal

En cirugía abdominal la combinación de las variantes en los genes de la MBL2 (rs1800450) y la IL-10 (rs1800872) tuvo una capacidad pronóstica de 0,64 ($p = 0,003$; IC 95 % = 0,55 - 0,73). Al añadirse al modelo clínico se obtuvo una curva ROC con un AUC de 0,80.

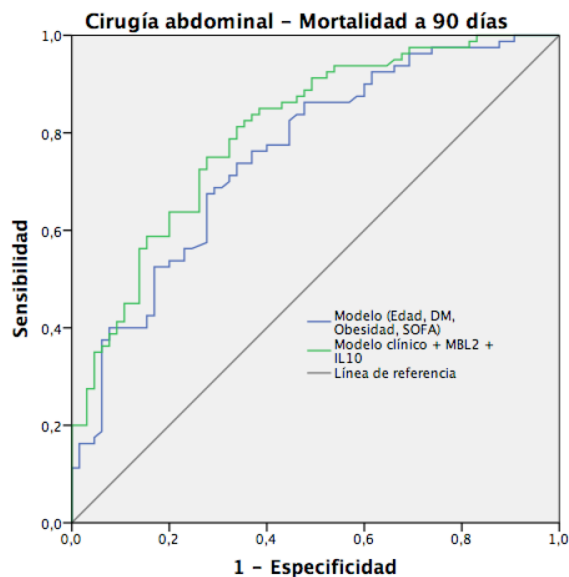


Tabla 32. Mortalidad a 90 días por sepsis en cirugía abdominal. Valores para la curva ROC.

Modelo	AUC	p	IC 95 %	
			Límite inferior	Límite superior
Modelo (Edad + DM + Obesidad + SOFA)	0,76	<0,001	0,68	0,83
Modelo clínico + MBL2 + IL-10	0,80	<0,001	0,73	0,87

Figura 24. Curva ROC para mortalidad a 90 días por sepsis en cirugía abdominal.

6.8.5 Modelo de predicción de mortalidad tardía en sepsis por neumonía

En el caso de la neumonía, los polimorfismos en los genes del ADRB2 (rs1042717), IL-1B (rs16944), MBL2 (rs1800450), CRP (rs2794521) y TLR4 (rs4986790 y rs4986791) pudieron discriminar a los supervivientes de los fallecidos con un AUC de 0,71, aumentando a 0,83 cuando se añadió el mejor modelo clínico.

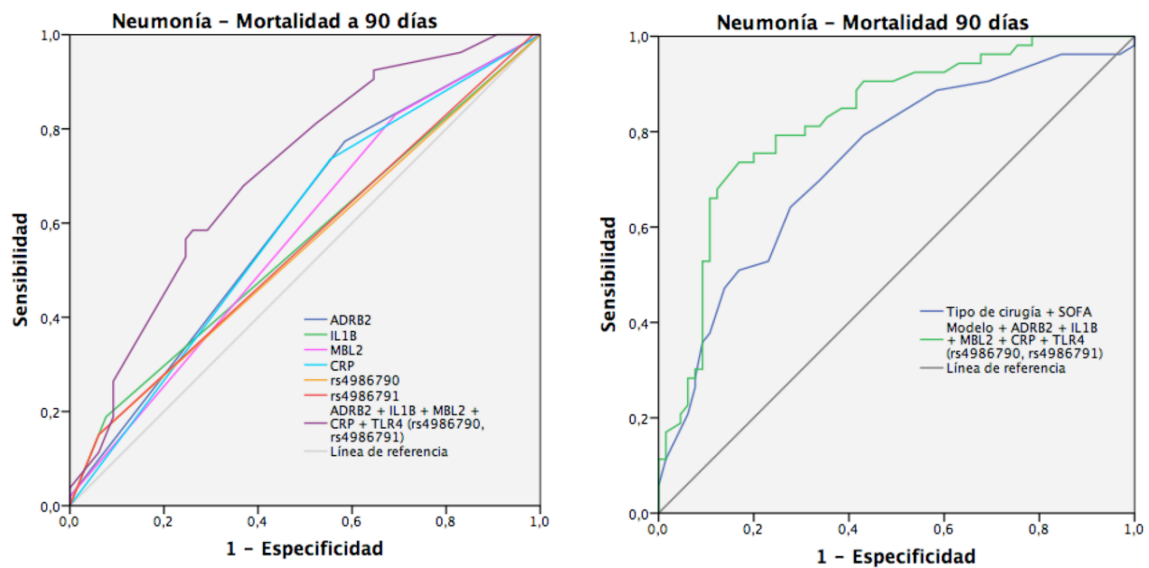


Figura 25. Curvas ROC para mortalidad a 90 días en sepsis por neumonía.

Tabla 33. SNP implicados en la mortalidad a 90 días en sepsis por neumonía. Valores para la curva ROC.

SNP	AUC	p	IC 95 %	
			Límite inferior	Límite superior
ADRB2	0,60	0,06	0,50	0,70
IL-1B	0,56	0,30	0,45	0,66
MBL2	0,58	0,16	0,47	0,68
CRP	0,59	0,09	0,49	0,69
rs4986790	0,54	0,40	0,44	0,65
rs4986791	0,55	0,34	0,45	0,66
ADRB2 + IL-1B + MBL2 + CRP + TLR4 (rs4986790, rs4986791)	0,71	<0,001	0,62	0,80

Tabla 34. Mortalidad a 90 días en sepsis por neumonía. Valores para la curva ROC.

Modelo	AUC	p	IC 95 %	
			Límite inferior	Límite superior
Tipo de cirugía + SOFA	0,74	<0,001	0,65	0,83
Modelo + ADRB2 + IL-1B + MBL2 + CRP + TLR4 (rs4986790, rs4986791)	0,83	<0,001	0,75	0,90

6.8.6 Modelo de predicción de mortalidad tardía en sepsis por peritonitis

La combinación de SNP en los genes de la MBL2 (rs1800450) e IL-10 (rs1800872) predijo la mortalidad por peritonitis en cirugía abdominal con un AUC de 0,66 y al añadirse al modelo clínico se obtuvo un AUC de 0,84.

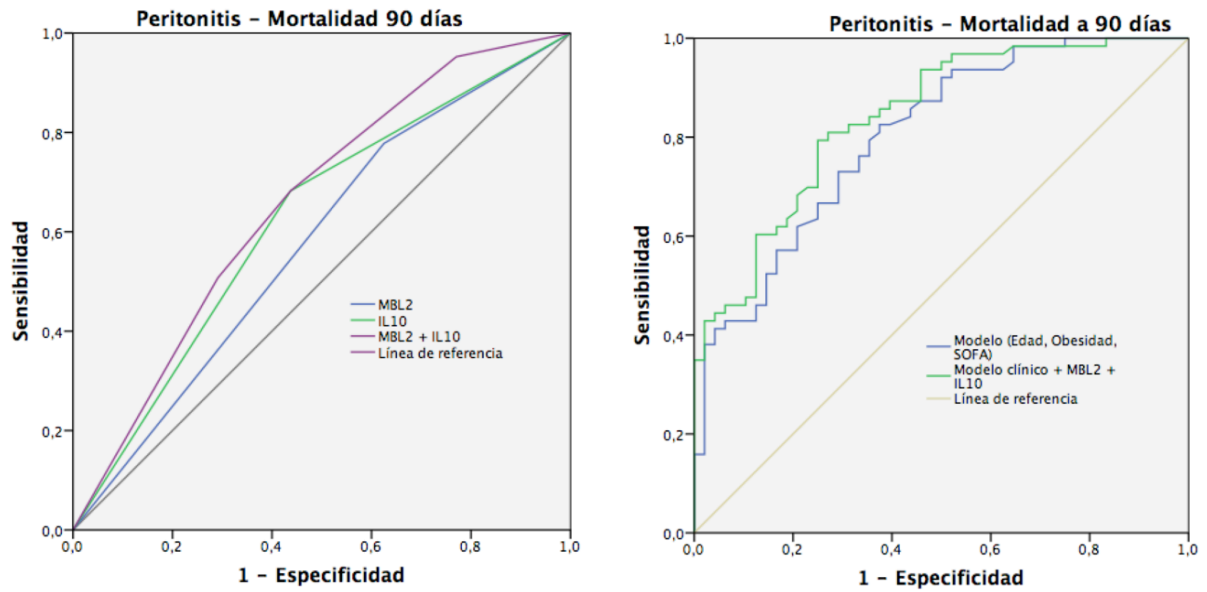


Figura 26. Curvas ROC para mortalidad a 90 días en sepsis por peritonitis.

Tabla 35. SNP implicados en la mortalidad a 90 días en sepsis por peritonitis. Valores para la curva ROC.

SNP	AUC	p	IC 95 %	
			Límite inferior	Límite superior
MBL2	0,58	0,17	0,47	0,68
IL-10	0,62	0,03	0,52	0,73
MBL2 + IL-10	0,66	0,004	0,55	0,76

Tabla 36. Mortalidad a 90 días en sepsis por peritonitis. Valores para la curva ROC.

Modelo	AUC	p	IC 95 %	
			Límite inferior	Límite superior
Modelo (Edad + Obesidad + SOFA)	0,80	<0,001	0,72	0,88
Modelo clínico + MBL2 + IL-10	0,84	<0,001	0,77	0,91

7 DISCUSIÓN

7.1 Características de la población

A diferencia de otros trabajos donde los pacientes provienen de UCI médicas o médico-quirúrgicas, nuestra población se compone solamente de pacientes posquirúrgicos, lo que se traduce en una ventaja al eliminar parte de la heterogeneidad que ha complicado la interpretación de los hallazgos de otros estudios y permitir obtener conclusiones aplicables a esta población específica.

Los pacientes de nuestro estudio se caracterizan por una edad avanzada con una media de 71 años, mayor a la edad descrita en otras cohortes de pacientes sépticos encontradas en la literatura [2 – 4, 6]. Este hallazgo puede estar en relación con el envejecimiento poblacional propio de España [184, 185]. Encontramos además una importante prevalencia de comorbilidades tales como diabetes, hipertensión, cardiopatía y presencia de neoplasia. La tasa de mortalidad (46,8 %) se encuentra dentro de la esperable para pacientes con sepsis grave y shock séptico [3].

La presencia de infección intraabdominal se relaciona con formas más graves de sepsis y una mayor mortalidad (54,3 %), hallazgo en concordancia con lo reportado por otros grupos. Del mismo modo, mayores puntuaciones de SOFA y APACHE se relacionan con una mayor mortalidad tanto a 28 como a 90 días.

7.2 Microbiología

Los sitios de infección más frecuentes son en su orden el pulmonar (47,6 %) seguido del intraabdominal (44,8 %), la infección de catéter (33,5 %), la infección del sitio quirúrgico (24,6 %), la infección del tracto urinario (11,7 %) y la endocarditis (6,5 %). La etiología más frecuente es la infección por microorganismos gram negativos seguido de los gram positivos. Existe un importante porcentaje de casos con infección mixta por gram positivos, gram negativos y hongos (35,9 %). Esta proporción es comparable a la reportada en la mayoría de series publicadas [2 – 4, 6].

7.3 Rol de la inmunidad innata en la patogénesis de la sepsis

La respuesta séptica depende del patógeno causante, de la carga microbiana y su virulencia, así como de factores del huésped, su constitución genética, su edad, su comorbilidad, el tiempo de inicio de infección, el uso de antimicrobianos y otras terapias.

La inmunidad innata es la primera respuesta del organismo ante la infección y los mecanismos biológicos que la conforman incluyen a los receptores de reconocimiento de patrones asociados a patógenos (lipopolisacáridos, peptidoglicanos, ácido lipoteicoico, etc) así como el reconocimiento de señales asociadas a daño, las citoquinas, las vías de señalización intracelular y el sistema de complemento. En este trabajo nos hemos centrado en polimorfismos de genes que han mostrado ser determinantes en el funcionamiento de estos sistemas.

La sepsis puede ser vista como una disregulación del sistema inmune. La puesta en marcha de la cascada de eventos moleculares que desencadena en la sepsis comienza por el reconocimiento de los patógenos a través del conjunto de receptores PRR. De estos receptores la familia Toll y las moléculas asociadas a su vía de señalización (TIRAP, TRIF, TRAM, IRAK) así como la familia de receptores NOD en el caso de patógenos intracelulares parecen ser los PRR más importantes en el inicio de la síntesis proteica de mediadores que resultan en la activación celular y la cascada de mecanismos inflamatorios. Aunque recientemente un estudio fase III de un antagonista del TLR4/MD2 no logró demostrar un beneficio en los pacientes sépticos [186], la inmunomodulación farmacológica sigue siendo una vía terapéutica factible y promisorio y las variantes genéticas que determinan la respuesta del individuo a la infección deberían convertirse en una herramienta pronóstica en el futuro.

Las citoquinas que hacen parte de la inmunidad innata cumplen un rol como reguladoras de la respuesta del huésped. En la actualidad se tiende a abandonar el concepto de la sepsis entendida como una respuesta inflamatoria exagerada seguida por una contraparte antiinflamatoria compensatoria al considerarse que este modelo es una simplificación excesiva. Está demostrado que la inducción de genes pro y

antiinflamatorios ocurre de manera simultánea y que la inhibición aislada de las dos moléculas proinflamatorias “clásicas”, la IL-1 y el TNF no resulta en una mejoría del pronóstico de los pacientes con sepsis [187, 188].

Por otra parte algunos trabajos reportan niveles elevados de los factores C3a y C5a del complemento como parte de la respuesta a la infección (resultado de las vías clásica, alternativa y de las lectinas), además, su activación excesiva se ha relacionado con un peor pronóstico de la sepsis [189]. Por ello, la inhibición del complemento está siendo evaluada como diana terapéutica en la sepsis [190].

Todo lo anterior hace que la importancia de las vías de la inmunidad innata en la patogenia de la sepsis esté más que justificada. La falta de beneficio de las terapias dirigidas a este nivel se explica al menos en parte por la heterogeneidad genética de la población, lo que nos lleva a la necesidad de conocer las variantes presentes en nuestra población y su rol en la sepsis.

7.4 Susceptibilidad

Demostramos que los genotipos A/A del gen de la IL-1B, C/C de la CRP y G de la IL-10 determinan un riesgo incrementado de desarrollo de sepsis en el postoperatorio de cirugía mayor. Trabajos previos han relacionado a las variantes funcionales del gen de la IL-1B en la posición 511 con un incremento en los niveles de la misma [154]; la variante descrita en el gen de la CRP se relaciona con mayores niveles de CRP plasmática en estudios poblacionales de marcadores inflamatorios [191] y las variantes de la posición 1082 del gen de la IL-10 con una mayor síntesis de interleucina [172, 174]. Estas variantes pueden determinar una mayor respuesta inflamatoria inicial en el caso de la IL-1B y CRP y un incremento en el estado tardío de inmunoparálisis relativa en el caso de la IL-10. El efecto de estos polimorfismos se mantiene en el caso del shock séptico. La IL-10 y la IL-1B también aumentan el riesgo de sepsis por neumonía.

El análisis de subgrupos muestra resultados interesantes y distintivos entre los pacientes de cirugía abdominal y cardíaca cuando se trata de definir perfiles de susceptibilidad para el desarrollo de sepsis. Mientras que en los pacientes de cirugía

abdominal tienen más peso las variantes en los genes de la CRP, la AGTRAP y el TLR4, en la cirugía cardíaca las variantes de los genes de la IL-10, la IL-6 y el CD14 tienen mayor importancia. El efecto de las variantes en los genes de la CRP, la AGTRAP y el TLR4 es más evidente al analizar el subgrupo de infección por peritonitis, lo que sugiere un mecanismo fisiopatológico común.

El SNP en el gen de la AGTRAP ha sido relacionado previamente con una mayor mortalidad por shock séptico [177] al conferir una resistencia relativa al efecto vasopresor de la angiotensina, lo que se traduce en mayor hipotensión y taquicardia. Este mismo efecto biológico explica la mayor susceptibilidad al desarrollo de sepsis encontrada.

Existen dos posibles mecanismos mediante los cuales se explica el efecto protector de la variante en el gen del TLR4 sobre la susceptibilidad a la sepsis. El más comúnmente aceptado implica que, al tratarse de la principal molécula de unión al LPS de la pared de los microorganismos gram negativos, un cambio en su conformación determina una diferencia en la afinidad del receptor por el LPS y regula por tanto la respuesta a la infección. Por otra parte, diferentes niveles de expresión de la molécula tienen un efecto sobre la vía de señalización del TIRAP/MAL que resulta en un desequilibrio en la respuesta de las vías de transcripción del interferón y del NF- κ B [192, 193].

7.5 Mortalidad

Los pacientes heterocigotos para el polimorfismo rs1042717 del gen del ADRB2 se caracterizan por una menor mortalidad por sepsis de forma temprana y tardía. Este efecto protector se mantiene durante los primeros 28 días en los pacientes que sufren un shock séptico.

Las variantes de los genes de la MBL2 y la IL-10 tienen un efecto protector en la mortalidad tardía de la sepsis y el shock séptico. Dichas variantes son además protectoras en el caso de los pacientes de cirugía abdominal afectados de peritonitis. En el caso del shock séptico la variante del gen del NFKBIA determina una mayor

mortalidad temprana y tardía. La variante del gen de la IL-6 sólo se relaciona con la mortalidad temprana.

Los pacientes de cirugía cardíaca se benefician del efecto protector de la variante del gen del ADRB2, mientras que el riesgo de mortalidad se incrementa por las variantes en los genes del NOD2 y TONSL tanto a 28 como a 90 días.

En los pacientes con neumonía las variantes en los genes del ADRB2 y la CRP se relacionan con una menor mortalidad, mientras que las variantes en el gen del TLR4 se asocian con una mayor mortalidad tanto a 28 como a 90 días.

La homocigosis en el gen del ADRB2 está descrita como un factor de mal pronóstico en el shock séptico al estar relacionada con una mala respuesta a agonistas adrenérgicos. Además está descrito un potencial efecto inmunomodulador que se explica por la existencia de receptores beta en la superficie linfocitaria capaces de alterar la producción de la IL-6, entre otros mediadores inflamatorios [176]. Creemos que la heterocigosis A/G del gen del ADRB2 puede determinar el efecto contrario a la homocigosis, con una menor respuesta inflamatoria a nivel leucocitario así como una respuesta alterada a vasopresores adrenérgicos, explicando así el efecto protector encontrado.

Las variantes en el gen del NFKBIA se relacionan con formas raras de inmunodeficiencia [139]. Su efecto biológico se explica por la capacidad de inhibir al NF- κ B; esta inhibición condiciona una disminución en la cascada de expresión de las moléculas pro inflamatorias que dependen de él.

El MBL tiene su función principal como detector microbiano y las variantes de su gen se han relacionado tradicionalmente con niveles séricos menores y una mayor susceptibilidad a la infección [121 – 124]. Sin embargo más recientemente se ha reconocido que la MBL2 posee efectos inmunomoduladores sobre el sistema del complemento y citoquinas como la IL-6 lo que hace plausible un efecto protector sobre la mortalidad como el que hemos visto en nuestros pacientes.

El efecto de las variantes del gen del TLR4 sobre la mortalidad por neumonía coincide con lo publicado sobre la mortalidad en otras series de pacientes de UCI [110, 114, 115]. La hipótesis más comúnmente aceptada para explicar este efecto tiene que ver con la respuesta que induce el LPS sobre el TLR4 y la cascada de eventos inflamatorios que se desencadenan.

Es de resaltar el papel de los polimorfismos en los genes del NOD2 y de la TONSL en el incremento de la mortalidad temprana y tardía de los pacientes con cirugía cardíaca. La variante del NOD2 evaluada (Arg702Trp) es una mutación de cambio de sentido y resulta en una proteína anómala incapaz de reconocer patógenos y de activar la inflamación de la vía del NF- κ B [129]. Las proteínas TONSL (antes conocidas como NFKBIL2) también actúan sobre el NF- κ B mediante su inhibición, lo que resulta en la pérdida de este mecanismo de respuesta del huésped a la infección [141]. Vemos entonces que la respuesta del NF- κ B es de particular importancia para los pacientes que van a ser intervenidos de cirugía cardíaca.

Únicamente las variantes de los polimorfismos en los genes del ADRB2 y la IL-10 tiene un efecto significativo sobre la supervivencia evaluado por el método de Kaplan Meier.

No hemos encontrado un efecto significativo para los polimorfismos de los genes del FCGR2A, IRAK1, TIRAP, TRAF6 y LNPEP en nuestra población. La ausencia de asociaciones significativas en gran parte de los polimorfismos estudiados refleja la gran variabilidad existente en la metodología empleada en los trabajos realizados a la fecha [130 – 138, 142 – 144, 187]. En estos estudios existen diferencias a nivel de la población estudiada y de las variables de resultado analizadas (bacteriemia, meningococcemia, sepsis aislada por gram negativos, etc.). Los estudios de genes candidatos tienen la dificultad de no ser capaces de distinguir las asociaciones verdaderamente causales de aquellas relacionadas con otros SNP no conocidos que pueden hacer parte de un único haplotipo. Por otra parte, la complejidad y redundancia de mecanismos en la estructura de nuestro sistema inmune también puede explicar por qué la presencia de un único polimorfismo no necesariamente se asocia con un cambio en la susceptibilidad a la infección o a su mortalidad, o puede ser

que el cambio sea de una magnitud inferior a aquella necesaria para ser relevante desde un punto de vista clínico.

7.6 Limitaciones

Como limitación de nuestro estudio está el número reducido de pacientes en algunos de los análisis de subgrupos. Para corregir este problema se seleccionaron únicamente aquellas asociaciones con valores de p más bajos (corrección de Bonferroni) con lo que disminuye la posibilidad de falsos positivos.

Otra limitación importante es la falta de una cohorte de validación que permita darle validez externa a los resultados obtenidos. Es necesario replicar los hallazgos de este estudio en otras poblaciones quirúrgicas a futuro.

Como limitación relativa se presenta el hecho de que la población proviene de un único centro. Sin embargo, creemos que al tratarse de un hospital de referencia para toda una comunidad autónoma, la muestra es muy representativa de la población española y se correlaciona con la práctica clínica habitual.

En términos generales, una gran variedad de asociaciones positivas o negativas se han reportado entre ciertos polimorfismos genéticos y la susceptibilidad o el pronóstico de la sepsis. El hecho de que los SNP analizados en este estudio no hayan sido estudiados con anterioridad en el caso específico de la sepsis grave y el shock séptico de los pacientes en posoperatorio de cirugía cardíaca y abdominal, da importancia a nuestros datos de cara a futuros estudios.

Reforzamos nuestra idea de que el pronóstico de los pacientes sometidos a una cirugía cardíaca o abdominal esta determinado en buena parte por la predisposición genética para reaccionar ante la infección y la agresión quirúrgica. Los genes implicados en la inmunidad innata intervienen de manera determinante en estas situaciones.

7.8 Futuros estudios

Los estudios futuros en la genética de la sepsis deben tener como objetivo principal encontrar herramientas que permitan predecir el grado de susceptibilidad individual a

desarrollar sepsis así como estratificar la gravedad y la probabilidad de muerte debida a la misma. La identificación de las variantes genéticas responsables de la respuesta del individuo a la agresión microbiana debe ofrecer dianas terapéuticas susceptibles de una intervención farmacológica personalizada, que permita realizar una estratificación basada en perfiles de riesgo genético de los pacientes que participen en ensayos clínicos, eliminando así la heterogeneidad clínica responsable del fracaso de numerosos estudios terapéuticos.

La agresión quirúrgica tiene características específicas que hacen que la infección y la sepsis sea diferente de aquella que se presenta en otros contextos clínicos. De allí surge la necesidad de diseñar y realizar estudios de asociación de genes candidatos en esta población. En el futuro deben realizarse estudios en poblaciones específicas de cirugía cardíaca y abdominal que cuenten con un mayor número de pacientes, y de ser posible, tengan un carácter multicéntrico que permita replicar los resultados que hemos obtenido. Sería interesante además evaluar el papel de estos polimorfismos en poblaciones con un origen racial diferente.

Una herramienta relativamente nueva, la técnica de estudio de genoma amplio, se ha hecho cada vez más disponible y se realiza con un coste cada vez menor. La aplicación de esta técnica permitirá la detección de nuevas vías biológicas implicadas en una entidad tan compleja como la sepsis.

8 CONCLUSIONES

1. El análisis de los polimorfismos en genes seleccionados de la inmunidad innata nos ha permitido encontrar variaciones en las frecuencias alélicas y en las distribuciones genotípicas. Estas variaciones se relacionan con cambios en la susceptibilidad a la sepsis grave y el shock séptico así como en su mortalidad.
2. Las variantes en los genes de la IL-1B, CRP e IL-10 determinan una mayor susceptibilidad para desarrollar sepsis en el posoperatorio de cirugía mayor.
3. Las variantes en los genes de la IL-6 y del NFKBIA determinan una mayor mortalidad temprana. Las variantes en los genes de la MBL2 y la IL-10 son protectoras de forma tardía mientras que la variante del gen del ADRB2 determina una menor mortalidad tanto de forma temprana como tardía.
4. Hemos podido definir perfiles específicos de riesgo genético en función del tipo de cirugía y el tiempo de evolución: en la cirugía cardíaca, los genes relacionados con la regulación negativa del NF- κ B (NOD2, TONSL y NFKBIA) determinaron una mayor mortalidad temprana. A los 90 días las variantes de los genes de la IL-1B y del NOD2 se relacionaron con una mayor mortalidad.
5. En la cirugía abdominal los SNP en los genes de la IL-1B y del ADRB2 se relacionaron con un efecto protector para mortalidad temprana. Las variantes en los genes de la MBL2 y de la IL-10 definieron un perfil de menor mortalidad tardía.
6. El uso de análisis de área bajo la curva nos permitió cuantificar el efecto de las variantes de riesgo genético en combinación con las variables clínicas como herramienta predictora de desarrollo de sepsis y mortalidad en cirugía.

9 REFERENCIAS

1. Hotchkiss RS, Karl IE. The pathophysiology and treatment of sepsis. *N Engl J Med* 2003; 348: 138-50.
2. Esteban A, Frutos-Vivar F, Ferguson ND, et al. Sepsis incidence and outcome: Contrasting the intensive care unit with the hospital ward. *Crit Care Med* 2007; 35: 1284–9.
3. Blanco J, Muriel-Bombín A, Sagredo V, et al. Incidence, organ dysfunction and mortality in severe sepsis: a Spanish multicenter study. *Crit Care* 2008; 12: R158.
4. Brun-Buisson C, Meshaka P, Pinton P, et al. EPISEPSIS: a reappraisal of the epidemiology and outcome of severe sepsis in French intensive care units. *Intensive Care Med* 2004; 30: 580-8.
5. Dombrovskiy VY, Martin AA, Sunderram J, et al. Rapid increase in hospitalization and mortality rate for severe sepsis in the United States: A trend analysis from 1993 to 2003. *Crit Care Med* 2007; 35: 1244-50.
6. Vincent JL, Sakr Y, Sprung CL, et al. Sepsis in European intensive care units: results of the SOAP study. *Crit Care Med* 2006; 34: 344–53.
7. Levy M, Vincent JL, Dellinger RP, et al. Outcomes of the Surviving Sepsis Campaign in intensive care units in the USA and Europe: a prospective cohort study. *Lancet Infect Dis* 2012; 12: 919-24.
8. Iñigo J, Sendra JM, Díaz R, et al. Epidemiology and costs of severe sepsis in Madrid. A hospital discharge study. *Med Intensiva* 2006; 30: 197-203.
9. Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, et al. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med* 2001; 29: 1303-10.
10. Real Academia Española. (2001). Diccionario de la lengua española (22.a ed.). Consultado en <http://www.rae.es/rae.html>.
11. Vincent JL, Opal SM, Marshall JC, et al. Sepsis definitions: time for change. *Lancet* 2013; 381: 774-5.
12. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference: definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Crit Care Med* 1992; 20: 864-74.
13. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, et al. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Intensive Care Med* 2003; 29: 530-8.

14. Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, et al. Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock, 2012. *Intensive Care Med* 2013; 39: 165-228.
15. Czura CJ. "Merinoff Symposium 2010: sepsis"—speaking with one voice. *Mol Med* 2011; 17: 2–3.
16. Bone RC, Balk RA, Cerra FB, et al. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. *Chest* 1992; 101: 1644-55.
17. Rivers E, Nguyen B, Havstad S, et al. Early goal-directed therapy in the treatment of severe sepsis and septic shock. *N Engl J Med* 2001; 345: 1368–77.
18. Bendjelid K, Romand JA. Fluid responsiveness in mechanically ventilated patients: A review of indices used in intensive care. *Intensive Care Med* 2003; 29: 352–60.
19. Varpula M, Tallgren M, Saukkonen K, et al. Hemodynamic variables related to outcome in septic shock. *Intensive Care Med* 2005; 31: 1066–71.
20. Reinhart K, Kuhn HJ, Hartog C, et al. Continuous central venous and pulmonary artery oxygen saturation monitoring in the critically ill. *Intensive Care Med* 2004; 30: 1572–8.
21. Jansen TC, van Bommel J, Schoonderbeek FJ, et al. Early lactate-guided therapy in intensive care unit patients: a multicenter, open-label, randomized controlled trial. *Am J Respir Crit Care Med* 2010; 182: 752–61.
22. Weinstein MP, Reller LB, Murphy JR, et al. The clinical significance of positive blood cultures: a comprehensive analysis of 500 episodes of bacteremia and fungemia in adults. I. Laboratory and epidemiologic observations. *Rev Infect Dis* 1983; 5: 35–53.
23. Blot F, Schmidt E, Nitenberg G, et al. Earlier positivity of central- venous- versus peripheral-blood cultures is highly predictive of catheter-related sepsis. *J Clin Microbiol* 1998; 36: 105–9.
24. Sendid B, Jouault T, Coudriau R, et al. Increased sensitivity of mannanemia detection tests by joint detection of alpha- and beta-linked oligomannosides during experimental and human systemic candidiasis. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 164–71.
25. Gutiérrez SM, Heredia M, Tamayo E, et al. Candidemia in ICU patients with sepsis. *Crit Care Med*. 2013 Nov; 41(11): e385.

26. Kumar A, Roberts D, Wood KE, et al. Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock. *Crit Care Med* 2006; 34: 1589–96.
27. Barie PS, Hydo LJ, Shou J, et al. Influence of antibiotic therapy on mortality of critical surgical illness caused or complicated by infection. *Surg Infect (Larchmt)* 2005; 6: 41–54.
28. Heyland DK, Johnson AP, Reynolds SC, et al. Procalcitonin for reduced antibiotic exposure in the critical care setting: A systematic review and an economic evaluation. *Crit Care Med* 2011; 39: 1792–9.
29. Jimenez MF, Marshall JC; International Sepsis Forum. Source control in the management of sepsis. *Intensive Care Med* 2001; 27 Suppl 1:S49–62.
30. Mier J, León EL, Castillo A, et al. Early versus late necrosectomy in severe necrotizing pancreatitis. *Am J Surg* 1997; 173: 71–5.
31. Liberati A, D'Amico R, Pifferi S, et al. Antibiotic prophylaxis to reduce respiratory tract infections and mortality in adults receiving intensive care. *Cochrane Collaboration* 2010; 9: 1–72.
32. Perner A, Haase N, Guttormsen AB, et al. Hydroxyethyl starch 130/0.42 versus Ringer's acetate in severe sepsis. *N Engl J Med* 2012; 367: 124–34.
33. Myburgh JA, Finfer S, Bellomo R, et al. Hydroxyethyl starch or saline for fluid resuscitation in intensive care. *N Engl J Med* 2012; 367: 1901–11.
34. Delaney AP, Dan A, McCaffrey J, et al. The role of albumin as a resuscitation fluid for patients with sepsis: a systematic review and meta-analysis. *Crit Care Med* 2011; 39: 386–91.
35. Marik PE, Cavallazzi R, Vasu T, et al. Dynamic changes in arterial waveform derived variables and fluid responsiveness in mechanically ventilated patients: a systematic review of the literature. *Crit Care Med* 2009; 37: 2642–7.
36. LeDoux D, Astiz ME, Carpati CM, et al. Effects of perfusion pressure on tissue perfusion in septic shock. *Crit Care Med* 2000; 28: 2729–32.
37. Martin C, Papazian L, Perrin G, et al. Norepinephrine or dopamine for the treatment of hyperdynamic septic shock?. *Chest* 1993; 103: 1826–31.
38. Martin C, Viviani X, Leone M, et al. Effect of norepinephrine on the outcome of septic shock. *Crit Care Med* 2000; 28: 2758–65.
39. De Backer D, Creteur J, Silva E, et al. Effects of dopamine, norepinephrine, and epinephrine on the splanchnic circulation in septic shock: Which is best? *Crit Care Med* 2003; 31: 1659–67.

40. Day NP, Phu NH, Bethell DP, et al. The effects of dopamine and adrenaline infusions on acid-base balance and systemic haemodynamics in severe infection. *Lancet* 1996; 348: 219–23.
41. Le Tulzo Y, Seguin P, Gacouin A, et al. Effects of epinephrine on right ventricular function in patients with severe septic shock and right ventricular failure: a preliminary descriptive study. *Intensive Care Med* 1997; 23: 664–70.
42. Bollaert PE, Bauer P, Audibert G, et al. Effects of epinephrine on hemodynamics and oxygen metabolism in dopamine-resistant septic shock. *Chest* 1990; 98: 949–53.
43. Zhou SX, Qiu HB, Huang YZ, et al. Effects of norepinephrine, epinephrine, and norepinephrine-dobutamine on systemic and gastric mucosal oxygenation in septic shock. *Acta Pharmacol Sin* 2002; 23: 654–8.
44. Levy B, Bollaert PE, Charpentier C, et al. Comparison of norepinephrine and dobutamine to epinephrine for hemodynamics, lactate metabolism, and gastric tonometric variables in septic shock: a prospective, randomized study. *Intensive Care Med* 1997; 23: 282–7.
45. Mackenzie SJ, Kapadia F, Nimmo GR, et al. Adrenaline in treatment of septic shock: effects on haemodynamics and oxygen transport. *Intensive Care Med* 1991; 17: 36–9.
46. Moran JL, O’Fathartaigh MS, Peisach AR, et al. Epinephrine as an inotropic agent in septic shock: a dose-profile analysis. *Crit Care Med* 1993; 21: 70–7.
47. Yamazaki T, Shimada Y, Taenaka N, et al. Circulatory responses to afterloading with phenylephrine in hyperdynamic sepsis. *Crit Care Med* 1982; 10: 432–5.
48. Gregory JS, Bonfiglio MF, Dasta JF, et al. Experience with phenylephrine as a component of the pharmacologic support of septic shock. *Crit Care Med* 1991; 19: 1395–400.
49. Annane D, Vignon P, Renault A, et al. Norepinephrine plus dobutamine versus epinephrine alone for management of septic shock: a randomised trial. *Lancet* 2007; 370: 676–684.
50. Russell JA, Walley KR, Singer J, et al. Vasopressin versus norepinephrine infusion in patients with septic shock. *N Engl J Med* 2008; 358: 877–87.
51. De Backer D, Aldecoa C, Vincent JL, et al. Dopamine versus norepinephrine in the treatment of septic shock: a meta-analysis. *Crit Care Med* 2012; 40: 725–30.
52. Bellomo R, Chapman M, Finfer S, et al. Low-dose dopamine in patients with early renal dysfunction: a placebo-controlled randomised trial. Australian and

- New Zealand Intensive Care Society (ANZICS) Clinical Trials Group. *Lancet* 2000; 356: 2139–43.
53. Kellum JA, M Decker J. Use of dopamine in acute renal failure: a meta-analysis. *Crit Care Med* 2001; 29: 1526–31.
54. Morelli A, Ertmer C, Rehberg S, et al. Phenylephrine versus norepinephrine for initial hemodynamic support of patients with septic shock: a randomized, controlled trial. *Crit Care* 2008; 12: R143.
55. Gattinoni L, Brazzi L, Pelosi P, et al. A trial of goal-oriented hemodynamic therapy in critically ill patients. Svo2 Collaborative Group. *N Engl J Med* 1995; 333: 1025–32.
56. Patel GP, Balk RA. Systemic steroids in severe sepsis and septic shock. *Am J Respir Crit Care Med* 2012; 185: 133–9.
57. Sprung CL, Annane D, Keh D, et al. Hydrocortisone therapy for patients with septic shock. *N Engl J Med* 2008; 358: 111–24.
58. Hébert PC, Wells G, Blajchman MA, et al. A multicenter, randomized, controlled clinical trial of transfusion requirements in critical care. Transfusion Requirements in Critical Care Investigators, Canadian Critical Care Trials Group. *N Engl J Med* 1999; 340: 409–17.
59. Warren BL, Eid A, Singer P, et al. KyberSept Trial Study Group: Caring for the critically ill patient. High-dose antithrombin III in severe sepsis: A randomized controlled trial. *JAMA* 2001; 286: 1869–78.
60. British Committee for Standards in Haematology, Blood Transfusion Task Force. Guidelines for the use of platelet transfusions. *Br J Haematol* 2003; 122: 10–23.
61. Bernard GR, Vincent JL, Laterre PF, et al. Recombinant human protein C Worldwide Evaluation in Severe Sepsis (PROWESS) study group. Efficacy and safety of recombinant human activated protein C for severe sepsis. *N Engl J Med* 2001; 344: 699–709.
62. Ranieri VM, Thompson BT, Barie PS, et al. PROWESS-SHOCK Study Group. Drotrecogin alfa (activated) in adults with septic shock. *N Engl J Med* 2012; 366: 2055–64.
63. Doyle RL, Szaflarski N, Modin GW, et al. Identification of patients with acute lung injury. Predictors of mortality. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 152: 1818–24.
64. Ranieri VM, Rubenfeld GD, Thompson BT, et al. Acute respiratory distress syndrome: the Berlin Definition. *JAMA* 2012; 307: 2526–33.

65. Ventilation with lower tidal volumes as compared with traditional tidal volumes for acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome. The Acute Respiratory Distress Syndrome Network. *N Engl J Med* 2000; 342: 1301–8.
66. Putensen C, Theuerkauf N, Zinserling J, et al. Meta-analysis: ventilation strategies and outcomes of the acute respiratory distress syndrome and acute lung injury. *Ann Intern Med* 2009; 151: 566–76.
67. Burns KE, Adhikari NK, Slutsky AS, et al. Pressure and volume limited ventilation for the ventilatory management of patients with acute lung injury: a systematic review and meta-analysis. *PLoS ONE* 2011; 6: e14623.
68. Guerin C, Gaillard S, Lemasson S, et al. Effects of systematic prone positioning in hypoxemic acute respiratory failure: a randomized controlled trial. *JAMA* 2004; 292: 2379–87.
69. Drakulovic MB, Torres A, Bauer TT, et al. Supine body position as a risk factor for nosocomial pneumonia in mechanically ventilated patients: a randomised trial. *Lancet* 1999; 354: 1851–8.
70. Girard TD, Kress JP, Fuchs BD, et al. Efficacy and safety of a paired sedation and ventilator weaning protocol for mechanically ventilated patients in intensive care (Awakening and Breathing Controlled trial): a randomised controlled trial. *Lancet* 2008; 371: 126–34.
71. Antonelli M, Conti G, Rocco M, et al. A comparison of noninvasive positive-pressure ventilation and conventional mechanical ventilation in patients with acute respiratory failure. *N Engl J Med* 1998; 339: 429–35.
72. Ferrer M, Esquinas A, Leon M, et al. Noninvasive ventilation in severe hypoxemic respiratory failure: a randomized clinical trial. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 168: 1438–44.
73. Sibbald WJ, Short AK, Warshawski FJ, et al. Thermal dye measurements of extravascular lung water in critically ill patients. Intravascular Starling forces and extravascular lung water in the adult respiratory distress syndrome. *Chest* 1985; 87: 585–592.
74. National Heart, Lung, and Blood Institute Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS) Clinical Trials Network, Wiedemann HP, Wheeler AP, Bernard GR, et al. Comparison of two fluid-management strategies in acute lung injury. *N Engl J Med* 2006; 354: 2564–75.
75. Rajaram SS, Desai NK, Kalra A, et al. Pulmonary artery catheters for adult patients in intensive care. *Cochrane Database Syst Rev* 2013; CD003408.

76. Brook AD, Ahrens TS, Schaiff R, et al. Effect of a nursing-implemented sedation protocol on the duration of mechanical ventilation. *Crit Care Med* 1999; 27: 2609–15.
77. Papazian L, Forel JM, Gacouin A, et al; ACURASYS Study Investigators. Neuromuscular blockers in early acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med* 2010; 363: 1107–16.
78. NICE-SUGAR Study Investigators, Finfer S, Liu B, Chittock DR, et al. Hypoglycemia and risk of death in critically ill patients. *N Engl J Med* 2012; 367: 1108-18.
79. Vinsonneau C, Camus C, Combes A, et al; Hemodiafe Study Group. Continuous venovenous haemodiafiltration versus intermittent haemodialysis for acute renal failure in patients with multiple-organ dysfunction syndrome: a multicentre randomised trial. *Lancet* 2006; 368: 379–85.
80. Augustine JJ, Sandy D, Seifert TH, et al. A randomized controlled trial comparing intermittent with continuous dialysis in patients with ARF. *Am J Kidney Dis* 2004; 44: 1000–7.
81. Cooper DJ, Walley KR, Wiggs BR, et al: Bicarbonate does not improve hemodynamics in critically ill patients who have lactic acidosis. A prospective, controlled clinical study. *Ann Intern Med* 1990; 112: 492–8.
82. Mathieu D, Neviere R, Billard V, et al. Effects of bicarbonate therapy on hemodynamics and tissue oxygenation in patients with lactic acidosis: a prospective, controlled clinical study. *Crit Care Med* 1991; 19: 1352–6.
83. Marik PE, Vasu T, Hirani A, et al. Stress ulcer prophylaxis in the new millennium: a systematic review and meta-analysis. *Crit Care Med* 2010; 38: 2222–8.
84. Doig GS, Heighes PT, Simpson F, et al. Early enteral nutrition, provided within 24h of injury or intensive care unit admission, significantly reduces mortality in critically ill patients: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Intensive Care Med* 2009; 35: 2018–27.
85. Geerts W, Cook D, Selby R, et al. Venous thromboembolism and its prevention in critical care. *J Crit Care* 2002; 17: 95–104.
86. Douketis J, Cook D, Meade M, et al. Prophylaxis against deep vein thrombosis in critically ill patients with severe renal insufficiency with the low-molecular-weight heparin dalteparin: an assessment of safety and pharmacodynamics: the DIRECT study. *Arch Intern Med* 2008; 168: 1805–12.
87. Agu O, Hamilton G, Baker D. Graduated compression stockings in the prevention of venous thromboembolism. *Br J Surg* 1999; 86: 992–1004.

88. Kakkos SK, Caprini JA, Geroulakos G, et al. Combined intermittent pneumatic leg compression and pharmacological prophylaxis for prevention of venous thromboembolism in high-risk patients. *Cochrane Database Syst Rev* 2008; 4: CD005258.
89. Anas AA, Wiersinga WJ, van der Poll T, et al. Recent insights into the pathogenesis of bacterial sepsis. *Neth J Med*. 2010; 68: 147-52.
90. Wiersinga WJ, Leopold SJ, Cranendonk DR, et al. Host innate immune responses to sepsis. *Virulence* 2014; 5: 36-44.
91. Chan JK, Roth J, Oppenheim JJ, et al. Alarmins: awaiting a clinical response. *J Clin Invest* 2012; 122: 2711-9.
92. Chen GY, Nuñez G. Sterile inflammation: sensing and reacting to damage. *Nat Rev Immunol* 2010; 10: 826- 37.
93. Kawai T, Akira S. The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors. *Nat Immunol* 2010; 11: 373-84.
94. Annane D, Bellissant E, Cavaillon JM. Septic shock. *Lancet* 2005; 365: 63-78.
95. De Pascale G, Cutuli SL, Pennisi MA, et al. The role of mannose-binding lectin in severe sepsis and septic shock. *Mediators Inflamm*. 2013; 2013: 625803.
96. Hack CE, Nuijens JH, Felt-Bersma RJ, et al. Elevated plasma levels of the anaphylatoxins C3a and C4a are associated with fatal outcome in sepsis. *Am J Med* 1989; 86: 20-6.
97. Dofferhoff AS, de Jong HJ, Bom VJ, et al. Complement activation and the production of inflammatory mediators during the treatment of severe sepsis in humans. *Scand J Infect Dis* 1992; 24: 197-204.
98. Ward PA, Guo RF, Riedemann NC. Manipulation of the complement system for benefit in sepsis. *Crit Care Res Pract* 2012; 2012: 427607.
99. Levi M, van der Poll T. Inflammation and coagulation. *Crit Care Med* 2010; 38(2 Suppl): S26-34.
100. Monneret G, Lepape A, Voirin N, et al. Persisting low monocyte human leukocyte antigen-DR expression predicts mortality in septic shock. *Intensive Care Med* 2006; 32: 1175-83.
101. Sorensen TI, Nielsen GG, Andersen PK, et al. Genetic and environmental influences on premature death adult adoptees. *N Eng J Med* 1988; 318: 727-32.
102. Arcaroli J, Fessler MB, Abraham E. Genetic polymorphisms and sepsis. *Shock* 2005; 24: 300-12.

103. De Aguiar BB, Girardi I, Paskulin DD, et al. CD14 expression in the first 24h of sepsis: effect of -260C>T CD14 SNP. *Immunol Invest* 2008; 37: 752-69.
104. Baier RJ, Loggins J, Yanamandra K. IL-10, IL-6 and CD14 polymorphisms and sepsis outcome in ventilated very low birth weight infants. *BMC Med* 2006; 4: 10.
105. Sutherland AM, Walley KR, Russell 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.
106. D'Avila LC, Albarus MH, Franco CR, et al. Effect of CD14 -260C> T polymorphism on the mortality of critically ill patients. *Immunol Cell Biol* 2006; 84: 342-8.
107. Jessen KM, Lindboe SB, Petersen AL, et al. Common TNF- alpha, IL-1 beta, PAI-1, uPA, CD14 and TLR4 polymorphisms are not associated with disease severity or outcome from Gram negative sepsis. *BMC Infect Dis* 2007; 7: 108.
108. Agnese DM, Calvano JE, Hahm SJ, et al. Human toll-like receptor 4 mutations but not CD14 polymorphisms are associated with an increased risk of gram-negative infections. *J Infect Dis* 2002; 186: 1522-5.
109. Lorenz E, Mira JP, Cornish KL, et al. A novel polymorphism in the toll-like receptor 2 gene and its potential association with staphylococcal infection. *Infect Immun* 2000; 68: 6398-401.
110. Nachtigall I, Tamarkin A, Tafelski S, et al. Polymorphisms of the toll-like receptor 2 and 4 genes are associated with faster progression and a more severe course of sepsis in critically ill patients. *J Int Med Res* 2014; 42: 93-110.
111. Moore CE, Segal S, Berendt AR, et al. Lack of association between Toll-like receptor 2 polymorphisms and susceptibility to severe disease caused by *Staphylococcus aureus*. *Clin Diagn Lab Immunol* 2004; 11: 1194-7.
112. Agnese DM, Calvano JE, Hahm SJ, et al. Human toll-like receptor 4 mutations but not CD14 polymorphisms are associated with an increased risk of gram-negative infections. *J Infect Dis* 2002; 186: 1522-5.
113. Lorenz E, Mira JP, Frees KL, et al. Relevance of mutations in the TLR4 receptor in patients with gram-negative septic shock. *Arch Intern Med* 2002; 162: 1028-32.
114. Henckaerts L, Nielsen KR, Steffensen R, et al. Polymorphisms in innate immunity genes predispose to bacteremia and death in the medical intensive care unit. *Crit Care Med* 2009; 37: 192-201.
115. Child NJ, Yang IA, Pulletz MC, et al. Polymorphisms in Toll-like receptor 4 and the systemic inflammatory response syndrome. *Biochem Soc Trans* 2003; 31: 652-3.

116. Barber RC, Chang LY, Arnoldo BD, et al. Innate immunity SNP are associated with risk for severe sepsis after burn injury. *Clin Med Res* 2006; 4: 250-5.
117. Shalhub S, Junker CE, Imahara SO, et al. Variation in the TLR4 gene influences the risk of organ failure and shock posttrauma: a cohort study. *J Trauma* 2009; 66: 115-22.
118. Yuan FF, Marks K, Wong M, et al. Clinical relevance of TLR2, TLR4, CD14 and FcγRIIA gene polymorphisms in *Streptococcus pneumoniae* infection. *Immunol Cell Biol* 2008; 86: 268–70.
119. Read RC, Pullin J, Gregory S, et al. A functional polymorphism of toll-like receptor 4 is not associated with likelihood or severity of meningococcal disease. *J Infect Dis* 2001; 184: 640–2.
120. Allen A, Obaro S, Bojang K, et al. Variation in Toll-like receptor 4 and susceptibility to group A meningococcal meningitis in Gambian children. *Pediatr Infect Dis J* 2003; 22: 1018–9.
121. Gordon A, Waheed U, Hansen T, et al. Mannose-binding lectin polymorphisms in severe sepsis: relationship to levels, incidence, and outcome. *Shock* 2006; 25: 88–93.
122. Kronborg G, Garred P. Mannose-binding lectin genotype as a risk factor for invasive pneumococcal infection. *Lancet* 2002; 360: 1176.
123. Roy S, Knox K, Segal S, et al. MBL genotype and risk of invasive pneumococcal disease: a case-control study. *Lancet* 2002; 359: 1569-73.
124. Moens L, Van Hoeyveld E, Peetermans WE, et al. Mannose-binding lectin genotype and invasive pneumococcal infection. *Hum Immunol* 2006; 67: 605–11.
125. Kronborg G, Weis N, Madsen HO, et al. Variant mannose-binding lectin alleles are not associated with susceptibility to or outcome of invasive pneumococcal infection in randomly included patients. *J Infect Dis* 2002; 185: 1517–20.
126. Zhang AQ, Yue CL, Pan W, et al. Mannose-binding lectin polymorphisms and the risk of sepsis: evidence from a meta-analysis. *Epidemiol Infect* 2014 Jan 7: 1-12.
127. Eklund C, Huttunen R, Syrjanen J, et al. Polymorphism of the C-reactive protein gene is associated with mortality in bacteraemia. *Scand J Infect Dis* 2006; 38: 1069-73.

128. Emonts M, Uitterlinden AG, Nouwen JL, et al. Host polymorphisms in interleukin 4, complement factor H, and C-reactive protein associated with nasal carriage of *Staphylococcus aureus* and occurrence of boils. *J Infect Dis* 2008, 197: 1244-53.
129. Brenmoehl J, Herfarth H, Glück T, et al. Genetic variants in the NOD2/CARD15 gene are associated with early mortality in sepsis patients. *Intensive Care Med* 2007; 33: 1541–8.
130. Yee AM, Phan HM, Zuniga R, et al. Association between FcγRIIIa-R131 allotype and bacteremic pneumococcal pneumonia. *Clin Infect Dis* 2000; 30: 25-8.
131. Yuan FF, Marks K, Wong M, et al. Clinical relevance of TLR2, TLR4, CD14 and FcγRIIA gene polymorphisms in *Streptococcus pneumoniae* infection. *Immunol Cell Biol* 2008; 86: 268-70.
132. Yuan FF, Wong M, Pererva N, et al. FcγRIIA polymorphisms in *Streptococcus pneumoniae* infection. *Immunol Cell Biol* 2003; 81: 192-5.
133. Endeman H, Cornips MC, Grutters JC, et al. The Fcγ receptor IIA-R/R131 genotype is associated with severe sepsis in community-acquired pneumonia. *Clin Vaccine Immunol* 2009; 16: 1087-90.
134. Moens L, Van Hoeyveld E, Verhaegen J, et al. Fcγ-receptor IIA genotype and invasive pneumococcal infection. *Clin Immunol* 2006; 118: 20-3.
135. Bouglé A, Max A, Mongardon N, et al. Protective effects of FCGR2A polymorphism in invasive pneumococcal diseases. *Chest* 2012; 142: 1474-81.
136. Fang Y, Zhang L, Zhou GQ, et al. Functional polymorphism in exon 5 and variant haplotype of the interleukin-1 receptor-associated kinase 1 gene are associated with susceptibility to and severity of sepsis in the Chinese population. *Chin Med J (Engl)* 2011; 124: 2248-53.
137. Arcaroli J, Silva E, Maloney JP, et al. Variant IRAK-1 haplotype is associated with increased nuclear factor-kappaB activation and worse outcomes in sepsis. *Am J Respir Crit Care Med* 2006; 173: 1335–41.
138. Toubiana J, Courtine E, Pène F, et al. IRAK1 functional genetic variant affects severity of septic shock. *Crit Care Med* 2010; 38: 2287-94.

139. Courtois G, Smahi A, Reichenbach J, et al. A hypermorphic $\text{I}\kappa\text{B}\alpha$ mutation is associated with autosomal dominant anhidrotic ectodermal dysplasia and T cell immunodeficiency. *J Clin Invest* 2003; 112: 1108–15.
140. Chapman SJ, Khor CC, Vannberg FO, et al. $\text{I}\kappa\text{B}\alpha$ genetic polymorphisms and invasive pneumococcal disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2007; 176: 181-7.
141. Chapman SJ, Khor CC, Vannberg FO, et al. Common NFKBIL2 polymorphisms and susceptibility to pneumococcal disease: a genetic association study. *Crit Care* 2010; 14(6): R227.
142. Khor CC, Chapman SJ, Vannberg FO, et al. A Mal functional variant is associated with protection against invasive pneumococcal disease, bacteremia, malaria and tuberculosis. *Nat Genet* 2007; 39: 523-8.
143. Hamann L, Kumpf O, Schumann RR, et al. Low frequency of the TIRAP S180L polymorphism in Africa, and its potential role in malaria, sepsis, and leprosy. *BMC Med Genet* 2009; 10: 65.
144. Song Z, Yao C, Yin J, et al. Genetic variation in the TNF receptor-associated factor 6 gene is associated with susceptibility to sepsis-induced acute lung injury. *Journal of Translational Medicine* 2012; 10: 166.
145. Mira JP, Cariou A, Grall F, et al. Association of TNF2, a TNF- alpha promoter polymorphism, with septic shock susceptibility and mortality: a multicenter study. *JAMA* 1999; 282: 561-8.
146. Barber RC, Aragaki CC, Rivera-Chavez FA, et al. TLR4 and TNF-alpha polymorphisms are associated with an increased risk for severe sepsis following burn injury. *J Med Genet* 2004; 41: 808-13.
147. Nakada TA, Hirasawa H, Oda S, et al. Influence toll-like receptor 4, CD14, tumor necrosis factor, and interleukin-10 gene polymorphisms on clinical outcome in Japanese critically ill patients. *J Surg Res* 2005; 129: 322-8.
148. Menges T, Konig IR, Hossain H, et al. Sepsis syndrome and death in trauma patients are associated with variation in the gene encoding tumor necrosis factor. *Crit Care Med* 2008; 36: 1456–62.
149. O’Keefe G, Hybki D, Munford R. The G > A single nucleotide polymorphism at the -308 position in the tumor necrosis factor-alpha promoter increases the risk for severe sepsis after trauma. *J Trauma* 2002; 52: 817–25.

150. Shalhub S, Pham TN, Gibran NS, et al. Tumor necrosis factor gene variation and the risk of mortality after burn injury, a cohort study. *J Burn Care Res* 2009; 30: 105-11.
151. Tang GJ, Huang SL, Yien HW, et al. Tumor necrosis factor gene polymorphism and septic shock in surgical infection. *Crit Care Med* 2000; 28: 2733–6.
152. Azim K, McManus R, Brophy K, et al. Genetic polymorphisms and the risk of infection following esophagectomy. Positive association with TNF-alpha gene - 308 genotype. *Ann Surg* 2007; 246: 122-8.
153. Waterer GW, Quasney MW, Cantor RM, et al. Septic shock and respiratory failure in community-acquired pneumonia have different TNF polymorphism associations. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163: 1599–604.
154. Pociot F, Molvig J, Wogensen L, et al. A TaqI polymorphism in the human interleukin-1 beta (IL-1 beta) gene correlates with IL-1 beta secretion in vitro. *Eur J Clin Invest* 1992; 22: 396–402.
155. Davis SM, Clark EA, Nelson LT, et al. The association of innate immune response gene polymorphisms and puerperal group A streptococcal sepsis. *Am J Obstet Gynecol* 2010; 202: 308.
156. Wan QQ, Ye QF, Ma Y, et al. Genetic association of interleukin-1 β (-511C/T) and its receptor antagonist (86-bpVNTR) gene polymorphism with susceptibility to bacteremia in kidney transplant recipients. *Transplant Proc* 2012; 44: 3026-8.
157. Read RC, Camp NJ, di Giovine FS, et al. An interleukin-1 genotype is associated with fatal outcome of meningococcal disease. *J Infect Dis* 2000; 182: 1557–60.
158. Shimada T, Oda S, Sadahiro T, et al. Outcome prediction in sepsis combined use of genetic polymorphisms - A study in Japanese population. *Cytokine* 2011; 54: 79-84.
159. Jessen K, Lindboe S, Petersen A, et al. Common TNFalpha, IL1beta, PAI-1, uPA, CD14 and TLR4 polymorphisms are not associated with disease severity or outcome from Gram negative sepsis. *BMC Infect Dis* 2007; 7: 108.
160. Ma P, Chen D, Pan J, et al. Genomic polymorphism within interleukin-1 family cytokines influences the outcome of septic patients. *Crit Care Med* 2002; 30: 1046–50.
161. Zhang AQ, Pan W, Gao JW, et al. Associations between interleukin-1 gene polymorphisms and sepsis risk: a meta-analysis. *BMC Med Genet* 2014; 15: 8.

162. Sutherland AM, Walley KR, Monacha S, et al. The association of interleukin 6 haplotype clades with mortality in critically ill patients. *Arch Intern Med* 2005; 165: 75–82.
163. Schluter B, Raufhake C, Erren M, 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.
164. Tischendorf JJ, Yagmur E, Scholten D, et al. The interleukin-6 (IL6)–174 G/C promoter genotype is associated with the presence of septic shock and the ex vivo secretion of IL6. *Int J Immunogenet* 2007; 34: 413–8.
165. Michalek J, Svetlikova P, Fedora M, et al. Interleukin-6 gene variants and the risk of sepsis development in children. *Hum Immunol* 2007; 68: 756–60.
166. Schluter B, Raufhake C, Erren M, et al. Effect of the interleukin-6 promoter polymorphism (–174G/C) on the incidence and outcome of sepsis. *Crit Care Med* 2002; 30: 32–7.
167. Tischendorf J, Yagmur E, Scholten D, et al. The interleukin-6 (IL6)–174G/C promoter genotype is associated with the presence of septic shock and the ex vivo secretion of IL6. *Int J Immunogenet* 2007; 34: 413–8.
168. Flores C, Ma S, Marresso K, et al. IL6 genome-wide haplotype is associated with susceptibility to acute lung injury. *Transl Res* 2008; 152: 11–7.
169. Wattanatham A, Manocha S, Groshaus H, et al. 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.
170. Schaaf BM, Boehmke F, Esnaashari H, et al. Pneumococcal septic shock is associated with the interleukin-10–1082 gene promoter polymorphism. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 168: 476–80.
171. Gallagher PM, Lowe G, Fitzgerald T, et al. Association of IL-10 polymorphism with severity of illness in community acquired pneumonia. *Thorax* 2003; 58: 154–6.
172. Stanilova S, Miteva L, Karakolev Z, et al. Interleukin-10–1082 promoter polymorphism in association with cytokine production and sepsis susceptibility. *Intensive Care Med* 2006; 32: 260–6.
173. Surbatovic M, Grujic K, Cikota B, et al. Polymorphisms of genes encoding tumor necrosis factor- α , interleukin-10, cluster of differentiation-14 and interleukin-1ra in critically ill patients. *J Crit Care* 2010; 25: 542.e1–8.
174. Shu Q, Fang X, Chen Q, et al. IL-10 polymorphism is associated with increased incidence of severe sepsis. *Chin Med J (Engl)* 2003; 116: 1756–9.

175. Mizuno K, Takahashi HK, Iwagaki H. Beta2-adrenergic receptor stimulation inhibits LPS-induced IL-18 and IL-12 production in monocytes. *Immunol Lett* 2005; 101: 168-72.
176. Nakada TA, Russell JA, Boyd JH, et al. beta2-Adrenergic receptor gene polymorphism is associated with mortality in septic shock. *Am J Respir Crit Care Med* 2010; 181: 143-9.
177. Nakada TA, Russell JA, Boyd JH, et al. Association of angiotensin II type 1 receptor-associated protein gene polymorphism with increased mortality in septic shock. *Crit Care Med* 2011; 39: 1641-8.
178. Nakada TA, Russell JA, Wellman H, et al. Leucyl/cystinyl aminopeptidase gene variants in septic shock. *Chest* 2011; 139: 1042-9.
179. Cornell TT, Wynn J, Shanley TP, et al. Mechanisms and regulation of the gene expression response to sepsis. *Pediatrics* 2010; 125: 1248-58.
180. Osuchowski MF, Connett J, Welch K, et al. Stratification is the key: inflammatory biomarkers accurately direct immunomodulatory therapy in experimental sepsis. *Crit Care Med* 2009; 37: 1567-73.
181. Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, et al. APACHE II: a severity of disease classification system. *Crit Care Med* 1985; 13: 818-29.
182. Moreno R, Vincent JL, Matos R, et al. The use of maximum SOFA score to quantify organ dysfunction/failure in intensive care. Results of a prospective, multicentre study. Working Group on Sepsis related Problems of the ESICM. *Intensive Care Med* 1999; 25: 686-96.
183. Juan R. González, Lluís Armengol, Xavier Solé, Elisabet Guinó, Josep M. Mercader, Xavier Estivill, Víctor Moreno: SNPassoc: an R package to perform whole genome association studies. *Bioinformatics* 23(5): 654-655 (2007).
184. Jiménez Mejías E, Olvera Porcel MC, Amezcua Prieto C, et al. Effect of age on the prevalence of diabetes mellitus in Spain between 2001 and 2012. *Nutr Hosp* 2014; 29:1335-8.
185. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. Informe 2010, las personas mayores en España. Datos estadísticos estatales y por comunidades autónomas. Instituto de Mayores y Servicios Sociales (IMSERSO). Primera edición 2012. Tomo I, p. 40.
186. Opal SM, Laterre PF, Francois B, et al. Effect of eritoran, an antagonist of MD2-TLR4, on mortality in patients with severe sepsis: the ACCESS randomized trial. *JAMA* 2013; 309: 1154-62.
187. Opal SM, Fisher CJ Jr, Dhainaut JF, et al. Confirmatory interleukin-1 receptor antagonist trial in severe sepsis: a phase III, randomized, double-blind, placebo-

- controlled, multicenter trial. The Interleukin-1 Receptor Antagonist Sepsis Investigator Group. *Crit Care Med* 1997; 25: 1115-24.
188. Bernard GR, Francois B, Vincent JL, et al. Evaluating the efficacy and safety of two doses of the polyclonal anti-tumor necrosis factor- α fragment antibody AZD9773 in adult patients with severe sepsis and/or septic shock: randomized, double-blind, placebo-controlled phase IIb study*. *Crit Care Med* 2014; 42: 504-11.
189. Charchafliéh J, Wei J, Labaze G. The role of complement system in septic shock. *Clin Dev Immunol* 2012; 2012: 407324.
190. Ward PA. The harmful role of c5a on innate immunity in sepsis. *J Innate Immun* 2010; 2: 439-45.
191. Carlson CS, Aldred SF, Lee PK, et al. Polymorphisms within the C-reactive protein (CRP) promoter region are associated with plasma CRP levels. *Am J Hum Genet* 2005; 77: 64-77.
192. Schroder NW, Schumann RR. Single nucleotide polymorphisms of Toll-like receptors and susceptibility to infectious disease. *Lancet Infect Dis* 2005; 5: 156-64.
193. Kumpf O, Giamarellos-Bourboulis EJ, Schumann RR, et al. Influence of genetic variations in TLR4 and TIRAP/Mal on the course of sepsis and pneumonia and cytokine release: an observational study in three cohorts. *Critical Care* 2010; 14(3): R103.
194. Thomassen MJ, Divis LT, Fisher CJ. Regulation of human alveolar macrophage inflammatory cytokine production by interleukin-10. *Clin Immunol Immunopathol* 1996; 80: 321-4.

