



Fecha de recepción: junio 18 de 2020
Fecha de aceptación: noviembre 8 de 2021

ARTÍCULO ORIGINAL

<https://dx.doi.org/10.14482/sun.38.2.616.94>

Evaluación del polimorfismo *TLR2* Arg753Gln como posible marcador de riesgo para el desarrollo de sepsis

Evaluation of TLR2 Arg753Gln Polymorphism as a Possible Risk Marker for Sepsis Development

ROXANA PANIAGUA NOGUE¹, JAIRO ROJANO RADA²,
MERCEDES FERNÁNDEZ-MESTRE³

¹ Centro Biomédico de Investigación en Medicina Interna (CEBIMI), Hospital Central del Instituto Venezolano de los Seguros Sociales “Dr. Miguel Pérez Carreño”, Caracas, Venezuela.

Orcid: <https://orcid.org/0000-0001-6520-7254>; CvLAC: 00017814982020515641

² Centro Biomédico de Investigación en Medicina Interna (CEBIMI), Hospital Central del Instituto Venezolano de los Seguros Sociales “Dr. Miguel Pérez Carreño”, Caracas, Venezuela. Orcid: <https://orcid.org/0000-0001-5203-1165>.

³ Mercedes Fernández-Mestre. Laboratorio de Fisiopatología, Centro de Medicina Experimental, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas.

Orcid: <https://orcid.org/0000-0001-6227-5884>; CvLAC: 000178144420205141524

Correspondencia: Altos de Pipe, apartado 21827. Zona postal 1020-A. Caracas, Venezuela. Teléfono: 58 212 5041155; fax: 58 212 5041086.

mfernandezmestre@gmail.com. mfernand@ivic.gob.ve.

RESUMEN

Objetivo: Evaluar el polimorfismo *TLR2* Arg753Gln como posible marcador de riesgo para el desarrollo de sepsis

Materiales y métodos: Estudio de asociación, el cual incluyó 183 individuos venezolanos no relacionados, agrupados en individuos sépticos (n=50), hospitalizados en el área de emergencia del Hospital Central del Instituto Venezolano de los Seguros Sociales –Dr. Miguel Pérez Carreño–, e individuos aparentemente sanos (n=133). El polimorfismo *TLR2* Arg753Gln se determinó utilizando la técnica reacción en cadena de la polimerasa con iniciadores de secuencias específicas.

Resultados: Se observó en el grupo de pacientes con escala SOFA en el rango entre 6-9 una mayor frecuencia de fallecimientos con respecto al grupo de pacientes con escala SOFA en el rango entre 0-5 (OR: 8.5; IC 95%: 2.33-30.90, p= 0,000357). El polimorfismo Arg753Gln del gen *TLR2* está ausente en los pacientes con diagnóstico de sepsis.

Conclusión: Se verificó que la escala SOFA es un sistema que permite predecir la mortalidad. La ausencia del polimorfismo Arg753Gln del gen *TLR2* en el grupo de pacientes sépticos y una baja frecuencia del mismo en los individuos aparentemente sanos, sugiere la rareza de este polimorfismo en la población venezolana. Consecuentemente, se requiere incrementar el tamaño de la muestra para poder comprobar si es un marcador de riesgo para el desarrollo de sepsis en nuestra población.

Palabras clave: polimorfismo, *TLR2*; Sepsis, Mortalidad, SOFA.

ABSTRACT

Objective: To evaluate the *TLR2* Arg753Gln polymorphism as a possible risk marker for sepsis development.

Materials and Methods: Association study which included 183 unrelated Venezuelan individuals, divided into two groups: patients with sepsis (n = 50), hospitalized in the emergency area of the Central Hospital of the Venezuelan Institute of Social Security “Dr. Miguel Pérez Carreño”, and apparently healthy individuals (n = 133). The *TLR2* Arg753Gln polymorphism was determined using the polymerase chain reaction technique with specific sequence primers.

Results: A higher death rate was observed among the group of patients with the SOFA scale range between 6-9, compared to the group of patients with the SOFA scale range between 0-5 (OR: 8.5; 95% CI: 2.33-30.90, p = 0.000357). The Arg753Gln polymorphism of the *TLR2* gene is absent in patients diagnosed with sepsis.

Conclusion: It was verified that the SOFA scale is a useful system to predict the mortality rate associated with sepsis. The absence of the Arg753Gln polymorphism of the *TLR2* gene among the group of patients with sepsis diagnosis and its low frequency in apparently healthy individuals suggests the rarity of this polymorphism in the Venezuelan population. Consequently, it is necessary to increase the size of the sample to be able to evaluate whether it can be considered as a risk marker for sepsis development in our population.

Keywords: Polymorphism; *TLR2*; Sepsis; Mortality; SOFA.

INTRODUCCIÓN

La sepsis es una respuesta sistémica a una infección grave o daño tisular que conduce a una red hiperactiva y desequilibrada de mediadores proinflamatorios. Además, la permeabilidad vascular, la función cardíaca y el equilibrio metabólico se ven afectados, resultando en necrosis tisular, insuficiencia multiorgánica y muerte (1).

La sepsis es considerada una entidad frecuente en los servicios de medicina interna y en los últimos años ha aumentado paulatinamente, por lo que es primordial el diagnóstico y control adecuado de los pacientes que la desarrollan. Asimismo, continúa siendo una de las principales causas de muerte en la unidad de cuidados intensivos (UCI), a pesar de la innovación constante de antibióticos, de los avances de soporte hemodinámico y a la creación de tratamientos para modular la respuesta inflamatoria (revisado en 2).

Existen estudios pronósticos de sepsis que emplean escalas de puntuación de gravedad, que intentan integrar datos clínicos en una única variable numérica con capacidad para predecir el curso clínico de un paciente. La escala SOFA es un sistema de medición diaria de falla orgánica múltiple, de seis disfunciones orgánicas, considerándose como el principal indicador pronóstico de tasa de mortalidad, donde un puntaje ≥ 2 refleja un riesgo de mortalidad global de aproximadamente un 10 % en la población general (revisado en 3). Si bien estas escalas pueden predecir el curso clínico de un paciente, se necesita con urgencia la identificación temprana de los pacientes con alto riesgo de sepsis después del ingreso en la UCI para ayudar a determinar las intervenciones terapéuticas (2).

La respuesta inmunitaria innata del hospedero juega un papel clave en el desarrollo de la sepsis y puede describirse como una desregulación del sistema inmunitario, mediada por receptores de re-

conocimiento de patrones después de la invasión de patógenos. La infección invasiva desencadena respuestas tanto proinflamatorias como antiinflamatorias en el hospedero, cuya magnitud depende de múltiples factores, incluida la virulencia del patógeno, el sitio de la infección, la genética del hospedero y las comorbilidades. Los receptores tipo Toll, los inflamasomas y otros receptores de reconocimiento de patrones inician la respuesta inmunitaria después del reconocimiento de patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP), derivados de microorganismos, o asociados a daño (DAMP), derivados del hospedero. Los TLR expresados en la superficie celular detectan principalmente componentes microbianos ubicados en la superficie o en las membranas de las bacterias, como lipoproteínas, lípidos y proteínas. El TLR2 forma heterodímeros con TLR1 y TLR6 que reconocen lipoproteínas de triacilo y diacilo; respectivamente, además, detecta peptidoglicano (componente de la pared celular bacteriana), ácido lipoteicoico (bacterias grampositivas) y zimosan (hongos), relevantes para la patogénesis de la sepsis (4). Por lo tanto, la alteración estructural y/o funcional de estos receptores, por polimorfismos en los genes que los codifican, afectaría la respuesta inmunitaria contra agentes infecciosos, favoreciendo así la replicación de los mismos.

Lorenz y colaboradores identificaron un polimorfismo sin sentido en el gen *TLR2* humano (rs5743708, G2258A, Arg753Gln), el cual genera una sustitución de arginina por glutamina en el residuo 753 del receptor. Igualmente, demostraron que este polimorfismo no afectaba la respuesta a lipopolisacárido (LPS), pero sí la respuesta a diferentes lipoproteínas bacterianas, observándose una menor respuesta en las células transfectadas con la variante mutada con respecto a las células transfectadas con la variante silvestre (5).

La sepsis y su forma más extrema, el shock séptico, se consideraba que era comúnmente causada por infecciones por microorganismos gramnegativos, pero más recientemente se ha descrito que más del 50 % de los casos son el resultado de microorganismos grampositivos (6). El análisis de una población de pacientes con shock séptico mostró que dos pacientes eran portadores del polimorfismo *TLR2* Arg753Gln y habían sufrido infecciones grampositivas; sugiriendo que este polimorfismo podría ser un factor de riesgo para desarrollar shock séptico después de una infección por bacterias grampositivas, al estar asociada con una respuesta disminuida a las lipoproteínas de estas bacterias (5).

Considerando el efecto funcional del polimorfismo *TLR2* Arg753Gln en el reconocimiento de lipoproteínas bacterianas, este estudio tuvo por objetivo evaluar el polimorfismo *TLR2* Arg753Gln como posible marcador de riesgo del desarrollo de sepsis.

MATERIALES Y MÉTODOS

Población de estudio

El estudio incluyó 183 individuos venezolanos, no relacionados, clasificados en dos grupos.

- Pacientes (n=50): Individuos con diagnóstico de sepsis, de acuerdo con las definiciones del tercer consenso internacional para sepsis y shock séptico (7), hospitalizados en la emergencia de Medicina Interna del Hospital Central del IVSS “Dr. Miguel Pérez Carreño”. Se excluyeron aquellos pacientes sin los estudios de laboratorio necesarios para determinar criterios de sepsis.
- Controles (n=133). Individuos aparentemente sanos.

Todos los individuos participantes firmaron un consentimiento aprobado por el Comité de Bioética del Hospital Central de Instituto Venezolano de los Seguros Sociales –Dr. Miguel Pérez Carreño–.

Análisis genotípico

Extracción del ADN genómico

El ADN genómico fue extraído de las células blancas de sangre venosa utilizando el protocolo de Bunce, en el cual se utiliza cloroformo como solvente orgánico (8).

Determinación del polimorfismo genético *TLR2* Arg753Gln

Para la determinación del polimorfismo genético *TLR2* Arg753Gln (rs5743708) se utilizó la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa con iniciadores de secuencias específicas (PCR-SSP). Los iniciadores y el protocolo utilizado fue el descrito por Smit et al. (9). Para ello se prepararon dos mezclas de reacción, una con los iniciadores para el alelo G y la otra con los iniciadores para el alelo A.

El producto de PCR de la variante Arg753Gln (rs5743708) del gen *TLR2* se verificó en geles de agarosa al 1,5 % (Agarosa LE, ACTGENE) teñido con bromuro de etidio (0.5µg/ml). La corrida se realizó a 100 voltios por 30 minutos, utilizando como referencia un marcador de tamaño molecular de 100 pares de bases (Lucigen). Los productos amplificados fueron visualizados a través de un equipo de foto documentación (Chemic Doc, BIORAD).

Para la genotipificación se consideró la presencia de un fragmento de 785 pb, correspondiente al control interno de la reacción (gen constitutivo *HLA-DR*), y la presencia y/o ausencia del fragmento de 423 pb correspondiente a los alelos específicos (G y A, respectivamente).

Análisis estadístico

Las frecuencias alélicas y genotípicas fueron calculadas por conteo directo. El equilibrio de Hardy Weinberg (H-W) fue determinado utilizando la herramienta SNPStats (10). Para determinar el posible riesgo, conferido por el polimorfismo *TLR2* Arg753Gln para desarrollar sepsis, se calculó la fuerza de asociación mediante el *Odds Ratio* (OR), con el correspondiente intervalo de confianza (IC 95 %). La significancia estadística de las diferencias de frecuencias, entre el grupo de pacientes y controles, fueron consideradas cuando el valor de probabilidad (*p*) fue menor a 0.05. Los valores de *p* fueron corregidos por el número de comparaciones.

RESULTADOS

Características demográficas de los pacientes con sepsis e individuos aparentemente sanos (controles)

Las características demográficas de los pacientes y controles se muestran en la tabla 1. De los 50 pacientes incluidos, 52 % eran mujeres y 48 % hombres, con un rango de edad comprendido entre 33 y 93 años y un promedio de 65.46 ± 14.71 años. Con respecto a los controles, 56.4 % eran mujeres y 43.6 % hombres, con un rango de edad comprendido entre 30 y 83 años y un promedio de 51.79 ± 10.82 años.

Tabla 1. Características demográficas de los pacientes con sepsis e individuos aparentemente sanos (controles)

Características	Pacientes con sepsis (n=50)	Controles (n=133)
Sexo		
Femenino	52 (26)	56.4 (75)
Masculino	48 (24)	43.6 (58)
Rango de edad (años)	33-93	30-83
Edad promedio	57.46 ± 13.22	51.79 ± 10.82

Las frecuencias están expresadas en porcentajes y entre paréntesis se indica el número de individuos.

Fuente: datos tabulados por los autores.

Comorbilidades, variables clínicas y paraclínicas de los pacientes con sepsis

Todos los pacientes presentaron por lo menos una comorbilidad subyacente, siendo las condiciones coexistentes más frecuentes: diabetes mellitus (52 %), enfermedad renal crónica (38 %), enfermedad pulmonar crónica (12 %), lupus eritematoso sistémico (10 %) y artritis reumatoide (8 %). Asimismo, el 20 % de los pacientes requirió intubación orotraqueal, 14 % aspiración de gleras y 4 % uso de corticoides por más de 3 meses (tabla 2).

Tabla 2. Comorbilidades subyacentes e intervenciones requeridas por los pacientes sépticos

Comorbilidades	Pacientes (n=50)
Diabetes mellitus	52 (26)
Enfermedad renal crónica	38 (19)
Enfermedad Hepática	2 (1)
Artritis Reumatoide	8 (4)
Enfermedad pulmonar crónica	12 (6)
Lupus eritematoso sistémico	10 (5)
Requerimientos	Pacientes (n=50)
Intubación orotraqueal	20 (10)
Aspiración	14 (7)
Uso de corticoides >3 meses	4 (2)

Las frecuencias están expresadas en porcentajes y entre paréntesis se indica el número de individuos.

Fuente: datos tabulados por los autores.

Con respecto a las variables clínicas, todos los pacientes sépticos presentaron temperatura $>38^{\circ}\text{C}$ y una frecuencia cardíaca >100 latidos por minuto, el 96 % una frecuencia respiratoria >20 respiraciones por minuto, 38 % alteración del estado mental y 24 % edema importante. Un 26 % de los pacientes padecía de hiperglucemia, 88 % leucocitosis y 12 % leucopenia. El análisis de las variables hemodinámicas mostró que un 16 % de los pacientes tenía una presión arterial sistólica (PAS) < 90 mm Hg. Entre las variables de disfunción orgánica, el 34 % de los pacientes presentó hipoxemia, 34 % oliguria aguda, 38 % creatinina elevada, 32 % trombocitopenia y 16 % hiperbilirrubinemia. Con respecto a las variables de perfusión tisular, un 78 % de los pacientes mostró hiperlactatemia y un 76 % disminución en el llenado capilar (tabla 3).

Tabla 3. Variables clínicas, paraclínicas, de disfunción orgánica y de perfusión tisular de los pacientes sépticos

Clínicas	Pacientes (n=50)
Temperatura > 38 °C	100 (50)
Frecuencia cardíaca >90 ppm	100 (50)
Frecuencia respiratoria >20 rpm	96 (48)
PCO ₂ >32	48 (24)
Paraclínicas	Pacientes (n=50)
Glóbulos blancos >12000	88 (44)
Glóbulos blancos < 4000	12 (6)
Alteración del estado mental	39 (19)
Edema importante	24 (12)
Disfunción orgánica	Pacientes (n=50)
Hipoxemia	34 (17)
Oliguria aguda	34 (17)
Creatinina elevada	38 (19)
Trombocitopenia	32 (16)
Hiperbilirrubinemia	32 (16)
Perfusión tisular	Pacientes n=50
Hiperlactatemia	78 (39)
Disminución del llenado capilar	76 (38)

Las frecuencias están expresadas en porcentajes y entre paréntesis se indica el número de individuos. PCO₂: presión parcial de dióxido de carbono (CO₂).

Fuente: datos tabulados por los autores.

Tipo de infección en los pacientes con sepsis

Al determinar la distribución de frecuencia del tipo de infección en los pacientes sépticos, el 50 % presentaba infecciones respiratorias bajas, un 20 % infección del tracto urinario y un 14 % infección en piel y partes blandas.

Antibiótico terapia de los pacientes con sepsis

Con respecto a la antibiótico terapia, los más utilizados fueron las cefalosporinas (48 %), seguida por carbapenémicos (16%), aminoglucósidos (14 %), lincosamidas y quinolonas (8 %, respectivamente), aztreonam (4 %) y gluco péptidos (2 %). Es importante resaltar que el 76 % de los pacientes recibió una terapia combinada y solo un 24 % recibió monoterapia.

Asociación de la escala SOFA con mortalidad

Al relacionar la mortalidad y la escala SOFA, se observó en el grupo de pacientes con escala SOFA en el rango entre 6-9 una mayor frecuencia de fallecimientos con respecto al grupo de pacientes con escala SOFA en el rango entre 0-5 (68 % vs. 32 %, respectivamente, OR: 8.5; IC 95 %: 2.33-30.90, $p=0,000357$, $pc:0,000714$) (tabla 4).

Tabla 4. Correlación entre la escala SOFA y mortalidad por sepsis

SOFA	SOFA 0-5 (n=28)	SOFA 6-9 (n=22)	OR IC 95%	p	pc
Fallecidos (25)	32 (8)	68 (17)	8,5 (2,33-30,90)	0,000357	0,000714
Sobrevivientes (25)	80 (20)	20 (5)	0,11 (0,03-0,42)	0,000357	0,000714

Las frecuencias están expresadas en porcentajes y entre paréntesis se indica el número de individuos. OR: Odds ratio, IC: intervalo de confianza; p : probabilidad, pc : valores de p corregidos.

Fuente: datos tabulados por los autores.

Asociación del polimorfismo Arg753Gln del gen *TLR2*

En el grupo de individuos aparentemente sanos se confirmó la existencia del equilibrio de H-W para la distribución genotípica del polimorfismo *TLR2* Arg753Gln. Al asignar los genotipos, en el grupo de pacientes sépticos solo se identificó el genotipo homocigoto silvestre (GG) y en los controles dos genotipos: el homocigoto silvestre (GG) y el heterocigoto (GA). En ambos grupos estaba ausente el genotipo homocigoto mutado (AA). Al establecer la comparación de frecuencias genotípicas y alélicas, entre pacientes y controles, no se observaron diferencias significativas (tabla 5).

Tabla 5. Asociación del polimorfismo *TLR2* Arg753Gln con el desarrollo de sepsis

Genotipos <i>TLR2</i> Arg753Gln	Pacientes sépticos (n=50)	Controles (n=134)	OR IC 95%	P
GG	100 (50)	97.8 (131)	2.2 (0.11-42.55)	0.27
GA	0	2.2 (3)	0.5 (0.02-9.10)	0.27
Alelos				
G	100 (100)	98.9 (263)	2.7 (0.14-52.14)	0.21
A	0	1.1 (3)	0.4 (0.02-7.31)	0.21

Las frecuencias están expresadas en porcentajes. Los valores mostrados entre paréntesis representan el número de individuos portadores del genotipo o el número de veces que se repite el alelo para el sitio polimórfico estudiado. OR: *Odds ratio*, IC: intervalo de confianza, p: valor de probabilidad.

Fuente: datos tabulados por los autores.

DISCUSIÓN

La sepsis constituye la entidad de mayor frecuencia en el área de emergencia adscrita a los servicios de medicina interna, representando una alta tasa de mortalidad, a pesar del mayor conocimiento y a las estrategias desarrolladas hasta el presente, como la campaña de supervivencia a la sepsis (11). El sistema inmunitario innato es una parte esencial en el desarrollo y progresión de la sepsis. Cabe destacar que, dentro de los factores etiológicos, algunos estudios consideran a los receptores tipo toll (TLR) factores de riesgo y pronóstico en estos pacientes (6).

En este contexto se planteó analizar si el polimorfismo *TLR2* Arg753Gln constituye un factor de riesgo para desarrollar sepsis. Para ello se determinó el polimorfismo *TLR2* Arg753Gln en un grupo de pacientes sépticos y un grupo de individuos aparentemente sanos (controles)

En esta investigación, los individuos con sepsis más afectados eran mayores de 70 años, procedentes del Distrito Capital, entidad administrativa del país con más casos, en concordancia con los datos del informe sobre análisis quinquenal 2005-2010 de la sepsis en Venezuela (12).

Diversos factores pronósticos pudieran estar vinculados con el fallecimiento de los pacientes con sepsis severa, pero la edad avanzada constituye uno de los elementos determinante en el desenlace final de los pacientes con sepsis (13,14). Con respecto a las comorbilidades subyacentes en los pacientes con sepsis, la mayoría padecía de diabetes mellitus. En pacientes sépticos, las tasas de mortalidad más altas ocurren en pacientes diabéticos (15); esto debido a que la diabetes favorece el crecimiento bacteriano no solo por el trastorno metabólico a nivel celular, sino también por las alteraciones en la microcirculación, predisponiendo a enfermedades infecciosas más frecuentes y graves (16). Oltean et al. detallaron que la presencia de una comorbilidad podría ser una variable para evaluar el riesgo de muerte en pacientes sépticos (17). Por otra parte, en un estudio realizado en una población colombiana, se describió que la neumonía era la principal causa de muerte en los pacientes con sepsis (18), siendo comparable con la mortalidad y el tipo de infección observada en los pacientes sépticos venezolanos.

Entre las características clínicas de los pacientes incluidos en este estudio, la temperatura mayor de 38°C, frecuencia cardíaca mayor de 100 latidos por minuto y frecuencia respiratoria mayor de 20 respiraciones por minuto fueron las más frecuentes. Estas variables son comparables con las descritas en la revisión sobre sepsis realizada por Kaukonen y colaboradores (19).

Como es bien sabido, los antibióticos constituyen unas de las principales estrategias en la supervivencia de los pacientes con sepsis. Cabe destacar que la elección de la antibiótico-terapia fue la primera línea de tratamiento en los pacientes incluidos en este estudio, siendo más frecuente el uso de cefalosporinas, carbapenémicos, seguido de aminoglucósidos, coincidiendo con lo sugerido por Singer et al., en el tercer consenso que definen sepsis y shock séptico 2016 (7), en el cual proponen el uso de antibióticos de amplio espectro, con los antimicrobianos previamente indicados, y el uso de la terapia combinada.

La sepsis sigue siendo un gran desafío para los sistemas sanitarios, por lo tanto, es indispensable continuar fortaleciendo la investigación en el campo biomolecular que permita la construcción de modelos de predicción más precisos que apoyen el ejercicio clínico. Es claro que el tratamiento oportuno individualizado en los pacientes con sepsis se asocia con disminución de la mortalidad y con reducción en el deterioro de la respuesta inflamatoria; por lo tanto, hay que continuar fortaleciendo el cumplimiento de las metas establecidas en el control de los pacientes con sepsis que redunde en menor mortalidad.

Se han desarrollado escalas para predecir la mortalidad en pacientes con sepsis, como la escala SOFA. En el presente estudio observamos que una puntuación entre 6 - 9 representó una variable significativa para predecir mortalidad, dado que un alto porcentaje de los individuos que fallecieron se ubicó en este rango. Existen pocos estudios que brindan evidencia confirmando esta probabilidad. Marín et al. especificaron que el Score SOFA es un sistema de puntuación para predecir la mortalidad y las complicaciones en pacientes sépticos (20). Igualmente, Raith et al. hallaron que un aumento en la puntuación del Score SOFA de 2 o más tiene una mayor precisión pronóstica en la mortalidad (21). Estos hallazgos sugieren que el Score SOFA es un marcador ideal de severidad de la sepsis y la aplicabilidad del mismo ayudará a predecir el resultado y aplicar intervenciones oportunas, considerando que la misma es un método rápido, económico y aplicable en los servicios de salud.

Con los avances tecnológicos se ha mostrado gran interés en el estudio del genoma humano y la susceptibilidad a padecer determinadas infecciones secundarias. Además, se han realizado estudios que se han enfocado en analizar polimorfismos de genes involucrados en la patogénesis y/o fisiopatología de la sepsis. Entre estos polimorfismos, la variante *TLR2* Arg753Gln ha sido la más ampliamente discutida. Se ha sugerido que este polimorfismo podría conducir a una disminución de la activación de las vías de señalización intracelular (20). Además, se ha descrito que la sustitución de arginina por glutamina en el residuo 753 (Arg753Gln) conduce a una disminución de la respuesta de los macrófagos a los péptidos bacterianos, resultando en una respuesta inmunitaria atenuada en el hospedero (5).

En este estudio se observó la ausencia del polimorfismo *TLR2* Arg753Gln en los pacientes con sepsis y una baja frecuencia del mismo en los individuos aparentemente sanos. Un estudio realizado por Iona et al. observaron que el alelo mutado (2258A) estaba presente solo en poblaciones europeas, específicamente en rumanos (f: 0.02; n=203), romaníes (f: 0.006; n=175) y holandeses (f: 0.04; n=262) y ausentes en otras poblaciones de África, Asia y América (22). Por otra parte, el proyecto ALFA, el cual proporciona la frecuencia alélica de los polimorfismos en distintas poblaciones, notifica que el alelo mutado (2258A) presenta una frecuencia de 0.02627 en una población global de 68908 individuos, con distintos origen étnico y geográfico. Debido a la rareza del alelo mutado del polimorfismo Arg753Gln del *TLR2* (rs5743708, G2258A), se sugiere evaluar un tamaño de muestra mayor para poder establecer si existe o no una correlación entre este polimorfismo y el riesgo para desarrollar sepsis.

Es importante destacar que el polimorfismo Arg753Gln del *TLR2* (rs5743708, G2258A) ha sido asociado con varias infecciones, como infecciones por *Candida* (23), infecciones bacterianas graves (24), enfermedad de Lyme en etapa tardía (25), fiebre reumática aguda (26), infecciones del tracto urinario (27), tuberculosis (28), leptospirosis (29), infecciones por citomegalovirus (30), infecciones por *Treponema pallidum* (31), entre otras. Asimismo, varios estudios han analizado la asociación entre el polimorfismo Arg753Gln del *TLR2* y el riesgo de sepsis, con resultados contradictorios. No obstante, un metaanálisis realizado por Gao et al. el cual incluyó 12 estudios, para un total de 898 casos y 1517 controles, demostró el efecto del polimorfismo *TLR2* Arg753Gln sobre el riesgo de sepsis, especialmente en poblaciones europeas, permitiendo identificar pacientes de alto riesgo (2). A pesar de la relevancia de dicho estudio, Tsujimoto et al. concluyeron que el metaanálisis de Gao et al. tiene el potencial de producir resultados incorrectos debido a la falta de evaluación de calidad de los estudios, a una búsqueda inapropiada para identificar estudios relevantes y la ausencia de registro de protocolo (32).

Si bien se ha descrito que la variación de Arg753Gln se encuentra dentro del dominio TIR del receptor *TLR2*, afectando la función de señalización en lugar de la unión del ligando, Schröder et al. demostraron, en una línea celular renal, que la sobreexpresión de *TLR-2* con el polimorfismo Arg753Gln conlleva a un deterioro significativamente mayor de la activación mediada por los ligandos *TLR-2/TLR-1* en comparación con los ligandos *TLR-2/TLR-6* (25). Durante la sepsis hay una activación sistémica de la respuesta inmunitaria debido a la liberación de altas concentraciones de DAMP, tanto de los microorganismos invasores como de los tejidos dañados, favoreciendo la estimulación de las células efectoras de la inmunidad innata. Como resultado, la sepsis se acompaña de una respuesta marcadamente desequilibrada de citoquinas, conocida como “tormenta de citoquinas”, que convierte las respuestas fisiológicas de defensa en un estado inflamatorio excesivo y perjudicial. En consecuencia, la fase temprana de la sepsis, que es causada por la activación excesiva del sistema de reconocimiento de patrones en el hospedero por daño tisular a gran escala y / o infección severa, conduce a una desregulación severa de varios sistemas como resultado del ambiente proinflamatorio (33). Por otra parte, la activación del inflammasoma *NLRP3* induce la activación de la caspasa-1, que provoca el procesamiento de las citoquinas proinflamatorias *IL-1 β* e *IL-18*. Esta activación durante la sepsis puede amplificar las respuestas inflamatorias y las consecuencias de la misma, ya sea beneficiosa o perjudicial, dependerá de la extensión y duración de la activación del inflammasoma. Asimismo, se ha demostrado la importancia de los inflamasomas en la defensa del hospedero contra

infecciones. Por ejemplo, los ratones que carecen de NLRP3 son más susceptibles a la infección por *Salmonella typhimurium* y a la neumonía por *Streptococcus pneumoniae* (34).

Con base en lo expuesto anteriormente, la desregulación en la producción de citoquinas y de la activación mediada por los ligandos de TLR-2 /TLR-1 o TLR-2/TLR-6 puede contribuir a las diferencias en las susceptibilidades a infecciones. Al mismo tiempo, la activación del inflamasoma, que conduce a la activación de la caspasa-1 y la producción de IL-1 β , probablemente contribuya a la lesión de órganos durante la sepsis (34).

Finalmente, dado que la sepsis se acompaña por una “tormenta de citoquinas”, sería importante estudiar los polimorfismos de genes codificantes de los componentes del inflamasoma NLRP3 y de citoquinas, como TNF- α , IL-1, IL-6, IL-10 e IL-17. Esta última producida principalmente por células Th17 e implicada en la patogénesis de la sepsis, dada su capacidad para mediar respuestas proinflamatorias, al desencadenar la producción de IL-1 β , IL-6 y TNF- α , entre otras citoquinas, y al proporcionar la transferencia de señales entre linfocitos y fagocitos (34).

CONCLUSIÓN

Los resultados encontrados en esta investigación nos permiten concluir:

El Score SOFA representa un marcador de severidad de la sepsis y la aplicabilidad de estas bio-escalas no solo ayudará a predecir el resultado, sino también aplicar intervenciones oportunas, considerando que la misma es un método rápido, económico y aplicable en los servicios de salud.

Debido a la rareza del alelo mutado del polimorfismo Arg753Gln del *TLR2* (rs5743708, G2258A), se sugiere evaluar un tamaño de muestra mayor para poder establecer si existe o no una correlación entre este polimorfismo y el riesgo para desarrollar sepsis en la población venezolana

Agradecimiento: Al personal sanitario y a los pacientes que participaron e hicieron posible el desarrollo de esta investigación.

Financiación: Este trabajo fue financiado por el Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas y Centro Biomédico de Investigación en Medicina Interna (CEBIMI).

Conflicto de intereses: Ninguno.

REFERENCIAS

1. Rittirsch D, Flierl MA, Ward PA. Harmful molecular mechanisms in sepsis. *Nat Rev Immunol*. 2008; 8 (10):776-87. doi: 10.1038/nri2402
2. Gao J, Zhang A, Wang X, Li ZY, Yang J, Zeng L, et al. Association between the *TLR2* Arg753Gln polymorphism and the risk of sepsis: a meta-analysis. *Crit Care*. 2015; 19: 416. doi: 10.1186/s13054-015-1130-3
3. Hu H, Du X, He Y, Yu C. Application of SOFA score as a predict tool for mortality of delayed admission to ICU on patients with acute respiratory failure. *Am J Emerg Med*. 2017; 35 (6):914-915. doi: 10.1016/j.ajem.2017.02.034.
4. Wiersinga WJ, Leopold SJ, Cranendonk DR, van der Poll T. Host innate immune responses to sepsis. *Virulence*. 2014; 5 (1):36-44. doi: 10.4161/viru.25436.
5. 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; 68:6398-6401. doi: 10.1128/IAI.68.11.6398-6401.2000.
6. Armstrong L, Medford ARL, Hunter KJ, Uppington KM, Millar AB. Differential expression of Toll-like receptor (TLR)-2 and TLR-4 on monocytes in human sepsis. *Clin Exp Immunol*. 2004; 136(2): 312-319. doi: 10.1111/j.1365-2249.2004.02433.x
7. Singer M, Deutschman C, Seymour C, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA* 2016; 315 (8): 801-810. doi: 10.1001/jama.2016.0287.
8. Bunce M, O'Neill CM, Barnardo MCNM, Krausa P, Browning MJ, Morris PJ et al. Phototyping: comprehensive DNA typing for HLA-A, B, C, DRB3, DRB4, DRB5 & DQB1 by PCR with 144 primer mixes utilizing sequence-specific primers (PCR-SSP). *Tissue Antigens*. 1995; 46: 355-367. doi: 10.1111/j.1399-0039.1995.tb03127.x.
9. Smit LAM, Bongers SIM, Ruven HJT, Rijkers GT, Wouters IM, Heederik D, Sigsgaard T. Atopy and new-onset asthma in young Danish farmers and CD14, *TLR2*, and *TLR4* genetic polymorphisms: a nested case-control study. *Clin Exp Allergy*. 2007; 37(11): 1602-1608. doi: 10.1111/j.1365-2222.2007.02831.x.

10. Solé X, Guino E, Valls J, Iniesta R, Moreno V. SNPStats: a web tool for the analysis of association studies. *Bioinformatics*. 2006; 22(15): 1928-1929. doi: 10.1093/bioinformatics/btl268.
11. Rhodes A, Evans L, Alhazzani W, Levy M, Antonelli M, Ferrer R et al. Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock: 2016. *Intensive Care Med*. 2017; 43(3): 304-377. doi: 10.1007/s00134-017-4683-6.
12. Rojano J, Nunziata A. Análisis quinquenal de mortalidad por sepsis. Ministerio del Poder Popular para la Salud, Venezuela: Anuario 2005 - 2010.
13. Vincent JL, Sakr Y, Sprung CL, Ranieri VM, Reinhart K, Gerlach H, et al. Sepsis in European Intensive Care Units: Results of the SOAP Study. *Crit Care Med*. 2006; 34(2): 344-353. doi: 10.1097/01.CCM.0000194725.48928.3A
14. Padkin A, Goldfrad C, Brady AR, Young D, Black N, Rowan K. Epidemiology of Severe Sepsis Occurring in the First 24 Hrs in Intensive Care Units in England, Wales, and Northern Ireland. *Crit Care Med*. 2003; 31(9): 2332-2338. doi: 10.1097/01.CCM.0000085141.75513.2B.
15. Trevelin SC, Carlos D, Beretta M, da Silva JS, Cunha FQ. Diabetes Mellitus and Sepsis: A Challenging Association. *Shock*. 2017; 47(3): 276-287. doi: 10.1097/SHK.0000000000000778.
16. Casqueiro J, Casqueiro J, Alves C. Infections in patients with diabetes mellitus: A review of pathogenesis. *Indian J Endocrinol Metab*. 2012; 16 Suppl 1 (Suppl 1): S27-36. doi: 10.4103/2230-8210.94253.
17. Oltean S, Tatulescu D, Bondor C, Slavcovici A, Cismaru C, Lupșe M et al. Charlson's weighted index of comorbidities is useful in assessing the risk of death in septic patients. *J Crit Care*. 2012; 27: 370-375. doi: 10.1016/j.jcrc.2011.08.021.
18. Niño M, Hormiga C, Ordoñez I, Villarreal V, Ardila L, Torres D. Mortalidad por sepsis e infecciones complicadas en el departamento de Santander, Colombia. *Univ Salud*. 2014; 16(2): 139-149.
19. Kaukonen KM, Bailey M, Pilcher D, Cooper J, Bellomo R. Systemic Inflammatory Response Syndrome Criteria in Defining Severe Sepsis. *N Engl J Med*. 2015; 372:1629-1638. doi: 10.1056/NEJMc1506819
20. Xiong Y, Song C, Snyder GA, Sundberg EJ, Medvedev AE. R753Q polymorphism inhibits Toll-like receptor (TLR) 2 tyrosine phosphorylation, dimerization with TLR6, and recruitment of myeloid differentiation primary response protein 88. *J Biol Chem*. 2012; 287(45): 38327-38337. doi: 10.1074/jbc.M112.375493.

21. Raith EP, Udy AA, Bailey M, McGloughlin S, MacIsaac C, Bellomo R, et al Prognostic Accuracy of the SOFA Score, SIRS Criteria, And Qsofa Score for In-Hospital Mortality Among Adults With Suspected Infection Admitted to the Intensive Care Unit. *JAMA*. 2017; 317(3): 290-300. doi: 10.1001/jama.2016.20328.
22. Ioana M, Ferwerda B, Plantinga TS, M Stappers M, Oosting M, McCall M, Cimpoeru A, F Bura-da, Panduru N, Sauerwein R, Doumbo O, van der Meer JWM, van Crevel R, Joosten LAB, Netea MG. Different patterns of Toll-like receptor 2 polymorphisms in populations of various ethnic and geographic origins. *Infect Immun*. 2012; 80(5):1917-22. doi: 10.1128/IAI.00121-12.
23. Georgel P, Macquin C, Bahram S. The heterogeneous allelic repertoire of human Toll-like receptor (TLR) genes. *PLoS One*. 2009; 4(11): e7803. doi: 10.1371/journal.pone.0007803.
24. Gerold G, Zychlinsky A, de Diego JL. What is the role of Toll-like receptors in bacterial infections? *Semin Immunol*. 2007; 19:41-47. doi: 10.1016/j.smim.2006.12.003.
25. Schröder NW, Diterich I, Zinke A, Eckert J, Draing C, von Baehr V, Hassler D, Priem S, Hahn K, Michelsen KS, Hartung T, Burmester GR, Göbel UB, Hermann C, Schumann RR. Heterozygous Arg753Gln polymorphism of human *TLR-2* impairs immune activation by *Borrelia burgdorferi* and protects from late stage Lyme disease. *J Immunol*. 2005; 175:2534-2540. doi: 10.4049/jimmunol.175.4.2534.
26. Berdeli A, Celik HA, Ozyurek R, Dogrusoz B, Aydin HH. *TLR-2* gene Arg753Gln polymorphism is strongly associated with acute rheumatic fever in children. *J Mol Med (Berl)*. 2005; 83 (7):535-41. doi: 10.1007/s00109-005-0677-x.
27. Tabel Y, Berdeli A, Mir S. Association of *TLR2* gene Arg753Gln polymorphism with urinary tract infection in children. *Int J Immunogenet*. 2007; 34 (6): 399-405. doi: 10.1111/j.1744-313X.2007.00709.x.
28. Ogus AC, Yoldas B, Ozdemir T, Uguz A, Olcen S, Keser I, Coskun M, Cilli A, Yegin O. The Arg-753Gln polymorphism of the human toll-like receptor 2 gene in tuberculosis disease. *Eur Respir J*. 2004;23(2):219-23. doi: 10.1183/09031936.03.00061703
29. Cédola M, Chiani Y, Pretre G, Alberdi L, Vanasco B, Gómez RM. Association of Toll-like receptor 2 Arg753Gln and Toll-like receptor 1 Ile602Ser single-nucleotide polymorphisms with leptospirosis in an Argentine population. *Acta Trop*. 2015; 146:73-80. doi: 10.1016/j.actatropica.2015.03.007.
30. El-Nabi SH, Sayed S, Abd-Elhafez MA, Elfiky M, Abdel Moneim AE, El-Garawani I. Arg753Gln Polymorphisms in the Toll-Like Receptor 2 Gene are Associated with Cytomegalovirus Infection in Egyptian Bone Marrow Recipients. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*. 2020;20(4):619-624. doi: 10.2174/1871530319666191018124710.

31. Marra CM, Sahi SK, Tantaló LC, Ho EL, Dunaway SB, Jones T, Hawn TR. Toll-like receptor polymorphisms are associated with increased neurosyphilis risk. *Sex Transm Dis.* 2014; 41(7):440-6. doi: 10.1097/OLQ.0000000000000149.
32. Grillová L, Musilová J, Janečková K, Pospíšilová P, Kuklová I, Woznicová V, Zákoucká H, Šmajš D. The Arg753Gln Polymorphism of Toll-Like Receptor 2 Has a Lower Occurrence in Patients with Syphilis, Suggesting Its Protective Effect in Czech and Slovak Individuals. *Infect Immun.* 2020; 89 (1): e00503-20. doi: 10.1128/IAI.00503-20.
33. Tsujimoto Y, Tsutsumi Y, Ikenoue T. Letter to the Editor: Lack of requirements for conducting meta-analysis to evaluate the association between the *TLR2* Arg753Gln polymorphism and the risk of sepsis. *Crit Care.* 2016; 20(1): 248. doi: 10.1186/s13054-016-1410-6.
34. Xing-hai Chen, Yong-jie Yin, and Jing-xiao Zhang Sepsis and immune response. *World J Emerg Med.* 2011; 2(2): 88-92.