



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA



INSTITUTO DE SEGURIDAD Y SERVICIOS SOCIALES DE LOS TRABAJADORES DEL ESTADO
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO
HOSPITAL REGIONAL 1° DE OCTUBRE

**“POLIMORFISMO EN PACIENTES CON SINDROME DE DIFICULTAD RESPIRATORIA AGUDA
(SIRA) EN DEPARTAMENTO DE CUIDADOS INTENSIVOS**

Tesis que para obtener el título de
Medicina del Enfermo en Estado Crítico

PRESENTA

Dr. Luis José Cabrera Miranda
(Autor principal)

Dr. Octavio Galvan Reyes
(Asesor de tesis)

Dr. Juan Antonio González Barrios
(Asesor de tesis)

HOSPITAL REGIONAL 1° DE OCTUBRE
I.S.S.T.E.
2015

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE

Resumen	_____	i
Summary	_____	ii
Introducción	_____	1
Definición del Problema	_____	9
Justificación	_____	9
Objetivos	_____	9
Material y Métodos	_____	10
Resultados	_____	11
Discusión	_____	15
Conclusiones	_____	16
Bibliografía	_____	17

RESUMEN

Introducción:

El síndrome dificultad respiratoria aguda inducido por infección por virus H1N1 representa un problema de salud que se asocia a alta mortalidad, es una enfermedad estacional y con frecuencia afecta a una particular porcentaje de la población, en particular a grupos hispanos y frecuentemente a población mexicana, tal es el caso del brote en 2009 en México, también debe destacarse el alto coste que de la atención hospitalaria que de la enfermedad deriva.

Material y Métodos:

Se realizó un estudio transversal analítico, observacional y multicéntrico, en pacientes que cursaran con síndrome de dificultad respiratoria aguda (SIRA) Los criterios de elegibilidad fueron para todos aquellos pacientes que tuvieran diagnóstico de SIRA hospitalizados en la unidades de cuidados intensivos en los servicio de salud ISSSTE, hombres o mujeres sin distinción, el diagnóstico de SIRA se realizó en base a los criterios establecidos en el consenso de Berlin 2012, las variables clínicas de origen cuantitativo y cualitativo se obtuvieron conjuntamente de los expedientes, historia clínica, hoja de enfermería y registros hemodinámicos, así como de forma dinámica durante el monitoreo rutinario del monitor de la ventilación mecánica y sistemas de monitoreo hemodinámico, los pacientes cursaron con SIRA secundario a infección por virus H1N1 y en el caso de los controles diagnóstico de SIRA sin infección por H1N1, la finalidad fue establecer relación entre infección por virus H1N1 y el polimorfismo de nucleótido único del factor de necrosis tumoral -376 G/A (rs 1800750), -308 G/A (rs 1800629), y -238 G/A (rs 361525), y -251 T/A (rs 4073) de interleucina 8, para ello se extrajo DNA, para su purificación se utilizaron 200 µL de sangre periférica, en el Laboratorio de Medicina Genómica del Hospital Regional "Primero de Octubre" del ISSSTE. Se emplearon microcolumnas (Genómica Blood Mini Kit de preparación de la vuelta) de General Electric Healthcare (Piscataway, NJ, EE.UU.), el DNA genómico fue cuantificado en un espectrofotómetro digital Nanodrop 8000 bajo las longitudes de onda 260, 280 y 320 nm, se determinaron los polimorfismos rs4073 (4802A>T) en la región codificante del gen CXCL8, así como los polimorfismos rs361525 (4752G>A), rs1800629 (4682G>A) y rs1800750 (4614G>A) la reacción de PCR en tiempo real para el SNP rs4073 se llevó a cabo con los oligonucleótidos sentido 5'-

GCCACTCTAGTACTATATCTGTC -3' y antisentido 5'- CTG AAG CTC CAC AAT TTG GTG -3' para amplificar un segmento de 97 pb, la identificación se realizó utilizando las sondas TaqMan La reacción de PCR fue conformada con 2.5 µL de 2X TaqMan Genotyping Master Mix, 0.25 µL de 20X del marcador que contenía 10 µM de cada uno de los oligonucleótidos sentido y antisentido, 5 µM de cada una de las sondas marcadas con VIC y FAM, la reacción se completó con 2.25 µL de gDNA a una concentración de 100 ng/µL.

Resultados:

Analizamos los polimorfismo y variables clínicas de 53 pacientes con diagnóstico SIRA de los cuales el 75.4% masculino y 16 (30.1%) pacientes tuvieron resultado negativo a H1N1 y 37 (69.8%) pacientes con resultado positivo. Se compararon variables clínicas “cuantitativas” entre los 2 grupos (positivo y negativo a H1N1) utilizando prueba t y U de Mann-Whitney, se encontró una mayor saturación de O₂ en el grupo negativo a H1N1 con una diferencia estadísticamente significativa (Grupo negativo a H1N1: SatO₂ 81.7±7.7% vs Grupo positivo a H1N1 70.4±15.3%, p=.008).también se encontró mayor presión parcial de oxígeno “PaO₂” en el grupo negativo a H1N1: 52.5±10.07 mmHg vs el grupo positivo a H1N1: 45.9±11.7 mmHg, con una tendencia estadística (p=.055). La ausencia de significancia estadística obedece a los intervalos de confianza amplios, respecto a los polimorfismos el análisis estadístico de las frecuencias genotípicas no revelo diferencia significativa entre los genotipos estudiados, los polimorfismos rs4073 y rs1800629 presentaron una leve tendencia a la significancia con una p de 0.2293 y 0.2465, los haplotipos TT/GG/GG/GG potenciaron la tendencia hacia lo significativo con un valor de p= 0.1484, Con los datos obtenidos y teniendo en consideracion la infección por Influenza AH1N1 como variable de desenlace, los SNPs estudiados no mostraron una correlación directa con el desarrollo de dicha patología.

Palabras clave:

Polimorfismo, síndrome de dificultad respiratoria aguda, influenza H1N1, nucleótido, factor de necrosis tumoral alfa, interleucina 8, unidad de cuidados intensivos, ventilación mecánica, estado de choque, sepsis severa, DNA polimórfico.

SUMMARY

Introduction:

Acute respiratory distress syndrome induced by H1N1 virus Infection is a Health problem high mortality can associates, is a seasonal disease and affects a hight percentage of population in a hispanic Groups and frequently a particular Mexican population, such is the case of the outbreak in 2009, noted Also the High Cost from the place of hospital care drift.

Material and Methods:

An analytical study, observational multicenter, was conducted on patients be pursuing with acute respiratory distress syndrome (ARDS) eligibility criteria for all those were patients with diagnosis of ARDS hospitalized in intensive care units in health service ISSSTE sin distinction men or women, the diagnosis was made based SIRA a criteria established in Berlin Consensus 2012, clinical variables quantitative and qualitative origin were obtained jointly have the records, clinic history, nursing and hemodynamic sheet, monitoring and mechanical ventilation and hemodynamic monitoring systems, the patients were enrolled in secondary SIRA A H1N1 virus by infection and in the case of controls diagnosis of not H1N1 infection SIRA, The purpose was establish relationship between Infection H1N1 virus and single nucleotide polymorphism of tumor necrosis factor of -376 G / A (rs 1800750) -308 G / A (rs 1800629) And -238 G / A (rs 361525) and -251 T / A (rs 4073) Interleukin 8, This DNA was extracted, para his purification 200 of peripheral blood were used in the laboratory of gnomic Medicine Regional hospital "first of October" ISSSTE. microcolumns (Genomic Blood Mini Kit Preparing the trip) GE Healthcare (Piscataway, NJ, USA) were used Genomic DNA was quantified in digital Nanodrop spectrophotometer UN 8000 under the wavelenghts 260, 280 and 320 nm, rs4073 polymorphisms (4802A> T) were determined in the coding region of the gene CXCL8 and rs361525 polymorphisms (4752G> A), rs1800629 (4682G> A) S rs1800750 (4614G> A) Time PCR reaction The SNP rs4073 Real took a corporal with the oligonucleotides 5'-SENSE GCCACTCTAGTACTATATCTGTC 3 'antisense 5'-CTG AAG CTC TTG GTG AAT CAC-3' to amplify the segment of 97 bp UN, the identification realize was using TaqMan Probes The PCR reaction WAS made with 2.5 l of 2X TaqMan Genotyping Master Mix, 0.25 l 20X marker containing 10 mM Each of the oligonucleotides DIRECTION and anti-sentido, 5 mM

Each One of the probes labeled with VIC and FAM, The reaction was completed with 2.25 l of a UNA gDNA concentration of 100 ng / mL.

Results:

We analyzed Polymorphism of 53 patients with ARDS of which 75.4% male and 16 (30.1%) patients had negative for H1N1 and 37 (69.8%) patients with positive result. "quantitative" clinical variables were compared between the 2 groups (positive and negative to H1N1) using Mann-Whitney test ty, higher saturation of O₂% was found in the negative group to H1N1 with a statistically significant difference (negative Group H1N1: SatO₂ 81.7 ± 7.7% vs positive H1N1 Group 70.4 ± 15.3%, p = .008). increased partial pressure of oxygen found "PaO₂" in the negative H1N1 group: 52.5 ± 10.7 mmHg vs. H1N1 positive group: 45.9 ± 11.7 mmHg, with a statistical tendency (p = 0.055). The absence of statistical significance due to wide confidence intervals, regarding polymorphisms statistical analysis of the genotype frequencies revealed no significant difference between genotypes studied, rs 4073 and rs1800629 polymorphisms showed a slight trend towards significance with p 0.2293 and 0.2465, the TT/GG/GG/GG haplotype enhanced the trend toward significant expecting a p = 0.1484, the data obtained and considering infection Influenza AH1N1 as outcome variable, the SNPs studied showed no direct correlation with the development of such pathology.

Keywords:

Polymorphism, acute respiratory distress syndrome, influenza H1N1, nucleotide, tumor necrosis factor alpha, interleukin 8 ICU, mechanical ventilation, shock, severe sepsis, polymorphic DNA.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 MARCO TEÓRICO

Hace aproximadamente 50 años, Ashbaugh y colaboradores describieron por primera vez el síndrome de distress respiratorio agudo, un patología caracterizada y descrita en aquel entonces como un trastorno en el cual existe hipoxia progresiva y refractaria a los tratamiento convencionales y a modalidades de ventilación convencionales, infiltrados bilaterales y disminución de la distensibilidad pulmonar, en ese entonces los estudios etiológicos se correlacionaron con eventos como: choque, trauma y pancreatitis, en breve se reporto la alta mortalidad, por ello se realizaron intentos por definir con mayor precisión dicho síndrome, en 1988 se clasificó basándole en el nivel de PEEP, la relación PaO_2/FiO_2 , el valor de distensibilidad y la presencia de infiltrados bilaterales en estudios de imagen pulmonar que además fueran de recién aparición, el bajo valor predictivo a las 24 y 72 hrs de inicio del síndrome, hizo que esos criterios cayeran en desuso, posteriormente en los años 90, se llevo a cabo uno de los primeros consensos sobre esta enfermedad, se conformo una nueva clasificación de acuerdo al comité de la conferencia europea-americana, esta patología se definió entonces como lesión pulmonar aguda y SIRA, ambas reconocidas como entidades muy semejantes pero con variaciones en la severidad, lo anterior basándose en el deterioro de la función respiratoria cuya forma de evaluación se designo por la relación PaO_2/FiO_2 , la más reciente clasificación se llevo a cabo en la conferencia de Berlin en 2012, donde la designación de SIRA cambio a grado leve, moderado y severo, se define de la siguiente: un síndrome de aparición súbita, forma en la cual existe un deterioro respiratorio agudo, en un periodo de al menos una semana, acompañado de opacidades bilaterales que no tienen una completa explicación por derrames, colapso pulmonar, lobar o por nodulaciones pulmonares, además se recomienda realizar algún estudio de gabinete en el cual se pueda demostrar la ausencia de edema intersticial pulmonar de origen cardiaco, el estudio sugerido es un ecocardiograma, el cual de forma objetiva puede excluir edema hidrostático, otro criterio considerado en la nueva clasificación es el uso de valores elevados de PEEP (presión positiva al final de la espiración) cuyos valores mayores a 5 cmH_2O han sido relacionados con la severidad de la enfermedad, finalmente la relación PaO_2/FiO_2 cuyo valor en esta clasificación no solo pretende ser diagnostico si no también categórico ayudando a establecer la severidad de la enfermedad, actualmente el Síndrome de Distress Respiratorio Agudo se

define como leve cuando la relación entre la presión arterial de O_2 y la fracción inspirada de O_2 es menor que 300 pero mayor de 200, moderada cuando es menor de 200 pero mayor de 100; y como severa cuando: es menor de 100,

Hay una estrecha relación en fisiopatología de pacientes con SIRA y Sepsis así como otras enfermedades en la cuales los complejos y cadenas inmunológicas juegan un papel crucial, hay limitación en el conocimiento acerca de la fisiopatología del SIRA y su asociación a otras entidades patológicas tales como el estado de choque, sin embargo sabemos que ambas patologías comparten entidades inflamatorias semejantes, en el caso del SIRA existen numerosas teorías que han argumentado que puede ser producido secundario a la presencia de endotoxinas, el LPS o endotoxina capaz de estimular directamente el complemento, estimulando a su vez directamente la agregación plaquetaria, migración de neutrofilos y la activación de macrófagos alveolares provocando liberación de una gran cantidad de mediadores inflamatorios como: el factor de necrosis tumoral, el péptido activador de neutrofilos, el factor activado de plaquetas que intervienen en la regulación de la activación de los neutrofilos estos pueden producir daño a través de tres mecanismos; liberación de enzimas proteolíticas, lisosimas, elastasas, hialuronidasas, colágenasas, los radicales libres de O_2 también han sido implicados en el desarrollo y fisiopatología de SIRA, radicales de O_2 NADPH oxidasa, los metabolitos de ácido araquidónico como el tromboxano A_2 y el leucotrieno B_4 , tienen capacidad de responder y activar la cadena inflamatoria así como mediar la actividad del endotelio vascular, se demostró que el factor de necrosis tumoral alfa se encontró elevado en muestras de líquidos obtenidos por lavado broncoalveolar, desempeñando un importante papel en lo referente a citotoxicidad. siendo un potencial blanco terapéutico con el uso de anticuerpos anti TNF alfa, algunos ejemplos de estos han sido publicados en estudios como el New England Journal Medicine pueden observarse parte de ellos en el uso de terapias usadas en el choque séptico y Sepsis severa, existen también ciertos factores de riesgo que otorgan mayor susceptibilidad para el desarrollo de estas enfermedades, tal es el caso de la determinante genética que si bien ha sido estudiada a partir del siglo XX, han explicado un número limitado de muertes, en años recientes se incorporó el concepto genético de enfermedad y su relación entre el desarrollo de las mismas, ciertas enfermedades como hipertensión, diabetes y distress respiratorio agudo han sido objeto de estudio, la influencia y pronóstico que ejerce la variación de un nucleótido en la enfermedad, en otras enfermedades existen muchos genes involucrados con variantes

genéticas normales, a estas variantes que son normales pero expresadas de forma multigénica se les denomina polimorfismos, en un ambiente específico los polimorfismos pueden modificar susceptibilidades o determinar la predisposición para determinadas enfermedades, evidentemente estos cambios pudieran favorecer o perjudicar a un individuo o su especie William Osler reconoció la variabilidad de la vida, dando en la actualidad a la medicina genómica importancia capital en relación al desarrollo y relación con ciertas enfermedades, hoy en día la medicina genómica intenta personalizar y optimizar el diagnóstico, pronóstico y tratamiento de algunas patologías, eso mediante el reconocimiento de las influencias que ejercen las normales y frecuentes variantes genómicas existentes entre diferentes individuos. En la actualidad se dispone de diferentes terapias farmacológicas en el mercado que han sido aprobados por la FDA y cuya información contiene datos farmacogenéticos que pueden ser interpretados como un intento en individualizar el tratamiento de un paciente y de una enfermedad dada, también ha contribuido en el desarrollo de nuevas tecnologías y pruebas diagnósticas, basadas en estas variantes genéticas y a través de las cuales se intenta describir susceptibilidad y comportamiento de un sujeto y su relación con su medio genético, un actual reto para el ámbito médico es la transferencia de esta información a la comunidad científica y su posterior aplicación en la práctica clínica, el reconocimiento de nuevas vías de señalización y nuevos integrantes de la vía de inflamación ayudarían en el establecimiento de nuevos blancos terapéuticos. Las variantes genéticas puntuales o polimorfismo, llamados también SNPs (polimorfismo de nucleótido único), pueden y se han estudiado a través del estudio de un gen candidato se pueden establecer nuevas opciones terapéuticas en el tratamiento de pacientes con SIRA Los polimorfismos se caracterizan por ser variantes normales de la secuencia del ácido desoxirribonucleico (ADN). Por definición, se considera polimorfismo a la variante que se encuentra en más del 1% de la población y que determina la existencia de al menos dos alelos. El alelo más frecuente es denominado nativo y el otro (u otros) polimórfico. Debido a que la frecuencia de los polimorfismos de cada gen varía entre las distintas poblaciones y áreas geográficas, el alelo nativo y el/los polimórfico/s son específicos para cada población. A diferencia de las mutaciones, los polimorfismos, individualmente considerados, no causan enfermedades específicas. Por ejemplo, la LPA y el SDRA están desencadenados evidentemente por factores ambientales, como la Sepsis o el traumatismo, y no existe un único gen que sea el causante de su desarrollo. Sin embargo, la variabilidad en la susceptibilidad y/o la gravedad entre distintos individuos si está influida por factores genéticos.

1.2 Genética

1.2.1 Estudio del gen candidato

Los polimorfismos pueden ser de diferentes tipos:

•**Polimorfismo de nucleótido simple** (single nucleotide polymorphism, SNP), que consiste en la sustitución de un único nucleótido por otro. En el genoma humano se encuentran registrados más de 3.1 millones de SNP1 constituyendo el tipo más frecuente de variantes genéticas.

•**De longitud de fragmentos de restricción** (restriction fragment length polymorphism, RFLP). Se trata de secuencias específicas de nucleótidos capaces de ser reconocidas y cortadas por enzimas de restricción. Un individuo puede tener o no la secuencia y, por consiguiente, ser polimórfico o no.

•**Repetición en tándem de número variable** (variable number tandem repeat, VNTR). Consiste en secuencias específicas de ADN que se repiten

1.2.2 Polimorfismo

Los polimorfismos pueden ejercer sus efectos ya sea benéfico o no de acuerdo a diferentes mecanismos

1.-Directamente, en el caso en que la presencia del polimorfismo se asocie con la variación en el riesgo de determinado evento, por ejemplo, mortalidad o susceptibilidad respecto a controles sanos o a pacientes en riesgo que no desarrollan la enfermedad.

2. En «grupo ligado», constituyendo un haplotipo. Por ejemplo, la uroquinasa es una serina proteasa que transforma el plasminógeno en plasmina 19,20. Arcaroli et al 21 comunicaron que el haplotipo conformado por los SNP rs1916341C/ rs2227562G/ rs2227564C/ rs2227566C/ rs2227568C/ rs4066C está asociado a una mayor mortalidad a 60 días en pacientes con LPA y SDRA, a pesar de que cada variante considerada individualmente no llegó a tener significación estadística.

3.- En «grupo no ligado», constituyendo combinaciones de genotipos. Por ejemplo, Schroeder et al 22 analizaron la relación de SNP de interleucinas con la susceptibilidad a LPA/SDRA, encontraron que la presencia en el mismo individuo del genotipo rs114634TC y el rs1800872AC se asociaba a un riesgo 12 veces superior para desarrollar LPA, a pesar de que individualmente no presento asociación y desarrollo de LPA y que sus genes (IL1 β e IL10, respectivamente) están localizados en cromosomas diferentes, En una reciente revisión bibliográfica se han descrito e involucrado en desarrollo de SIRA a 23 diferentes genes los cuales a su vez han sido relacionados con susceptibilidad para SIRA y

mortalidad, la frecuencia depende de la población y de sus características específicas, recomendando la diferenciación geográfica por aéreas. En este caso el elemento típico de estudio y por tanto de observación es el polimorfismo del paciente con síndrome de dificultad respiratoria aguda, El polimorfismo comprende variantes que se consideran esperadas o normales en el Ácido desoxirribonucleico, por definición se le considera como tal a la variante que se encuentra en más de 1 % de la población y que determina la existencia de al menos 2 alelos de estos últimos el más frecuente se denominada alelo salvaje y el otro polimórfico, un aspecto clave de la investigación en genética es asociar variaciones de secuencia con fenotipos hereditarios. Las variaciones más comunes son los polimorfismos de nucleótido único (SNP), que ocurren aproximadamente una vez cada 100 a 300 bases. Se espera que los SNPs faciliten los estudios de asociación genética a gran escala, por ello ha habido recientemente un gran interés en el descubrimiento y la detección de SNP. en la actualidad se sabe que la frecuencia de cada gen (polimorfismo) varía entre poblaciones y regiones geográficas el alelo nativo y el polimórfico han resultados ser prácticamente específicos para cada población, por supuesto no estamos diciendo que un solo polimorfismo sea capaz por sí solo de causar enfermedad, en el caso de el síndrome de dificultad respiratoria sabemos que es causado por múltiples factores de orden intrínsecos y extrínsecos tal como; factores ambientales, Sepsis y traumatismo, sin embargo el polimorfismo puede relacionarse directamente con esta variabilidad en la susceptibilidad y gravedad; y por lo tanto con la mortalidad de distintos pacientes siendo influenciada por factores genéticos. Como mencionamos en otro apartado de este trabajo el polimorfismo pueden ser de tres tipos de nucleótido único, en tanden, de número variable o bien de longitud de restricción de fragmentos, con respecto al síndrome de distres respiratorio agudo existe un problema de suma importancia en el campo de la investigación, se refiere a lo que autores como P Cradinal Fernández designo como fenotipo imperfecto refiriéndose a la dificultad que existe para identificar las características clínicas de SIRA que realmente correspondan a SIRA y no a otro tipo de enfermedad pulmonar, para ello se requeriría de forma ideal un estudio histopatológico, en el trabajo que proponemos es fácil identificar a pacientes con SIRA, la mayoría de ellos pertenecer a pacientes de unidades de cuidados intensivos además de ser pacientes que presentan la enfermedad en forma de brote y en relación a un agente etiológico, En la actualidad existen dos formas básicas para el estudio genético de enfermedades complejas; uno es el estudio del genoma y el estudio del gen candidato, la primera de ellas implica el conocimiento y estudio de una

secuencia del polimorfismo distribuido en todo el genoma de tal suerte que, con el conocimiento de una de las secuencias de ellos es posible predecir el resto de la secuencia hasta una distancia lógica de 3×10^4 pares de bases. La segunda forma, es decir del análisis de un gen candidato, implica la selección previa de un gen y un polimorfismo del mismo que pudiera relacionarse con la etiología y fisiopatología de una enfermedad, esto resulta más sencillo, económico y reproducible, permite el estudio de un mayor número de individuos existiendo para su estudio un fundamento e hipótesis dirigidos, en estudios previos se han vinculado alrededor de 23 genes con el desarrollo de SIRA,

Un importante grupo de SNP son aquellos que corresponden a una mutación con cambio de sentido y que podrían modificar la secuencia de aminoácidos y las mutaciones de una proteína dándole características diferentes con cambios puntuales de un residuo que pueden tener distinto efecto en la función proteica (que va desde ninguna variación hasta la pérdida funcional total de dicha proteína), de esta forma lo más habitual es que la sustitución de un aminoácido por otro de similar tamaño y propiedades fisicoquímicas tenga un efecto atenuador sobre la funcionalidad de la proteína, mientras que si el SNP afecta a los aminoácidos clave de la estructura secundaria suele tener graves consecuencias en su funcionalidad, en la actualidad tratar de predecir el efecto de un polimorfismo sobre alguna función o bien en la predisposición de enfermedades o respuesta a tratamiento resulta difícil, esto se ha logrado mediante estudios experimentales en ingeniería genética o técnicas de diagnóstico molecular, hay una gran variedad de polimorfismos cuya nomenclatura es bastante confusa pero en la actualidad existe bancos informativos en los cuales se contiene la mayoría de los polimorfismos y su probable impacto en la salud, se nombran de acuerdo a el prefijo seguido de un punto y un signo "mayor que" separando la versión silvestre del nucleótido o aminoácido mutado, por ejemplo, c.76A>T, el rs corresponde a un número asignado en la base de datos (dbSNP rs number). Tenga en cuenta que dbSNP toma la definición más laxa 'variación' de SNPs, por lo que no hay ningún requisito o suposición sobre la frecuencia mínima del alelo.) Los datos de la dbSNP se integrarán con otros datos genómicos. La base de datos está dispuesta a aceptar la presentación de otros datos. dbSNP distingue un informe de cómo analizar un SNP de la utilización de dicho SNP con individuos y poblaciones. Esta separación simplifica algunas cuestiones de representación de datos. Estos informes iniciales que describen cómo analizar un SNP a menudo se acompañan de experimentos mediciones, ocurrencias, alelos de individuos y poblaciones.

A continuación describiremos parte de las características que los SNP en relación a este estudio.

El rs(1800750); rs10800750 es un polimorfismo originario del Homo sapiens, secuencia,

TCTTTTTCCTGCATCCTGTCTGGAA[A/G]TTAGAAGGAAACAGACCACAGACCT,

Cromosoma 6:315751

Gen del factor de necrosis tumoral alfa. (TNFa)

Frecuencia alélica global A=0.0112/56 representa la segunda frecuencia alélica más frecuente

Alelo ancestral Guanina

Significado clínico Desconocido

Este descrito en la base de datos NCBI, el alelo original es el de guanina, el significado clínico aún es desconocido su estado de validación está dado por múltiples presentaciones independientes al clúster refSNP por frecuencia o datos genotípicos: se tiene alelos menores observados en al menos dos cromosomas. También validado por la confirmación remitente, se ha secuenciado en el proyecto 1000 Genoma.

El alelo más frecuente en la población mundial está representado por /G/G) en la población Hispana y mexicana esto se cumple también. El menos frecuente está representado por el haplotipo A/G, mientras que el alelo más frecuente está representado por G

ss#	Sample Ascertainment				Genotype Detail			Alleles	
	Population	Individual Group	Chrom. Sample Cnt.	Source	A/G	G/G	HWP	A	G
ss12691493	HapMap-CEU	European	226	IG	0.018	0.982	1.000	0.009	0.991
	HapMap-HCB	Asian	90	IG		1.000			1.000
	HapMap-JPT	Asian	88	IG		1.000			1.000
	HapMap-YRI	Sub-Saharan African	226	IG	0.009	0.991	1.000	0.004	0.996
	HAPMAP-ASW		98	IG	0.020	0.980	1.000	0.010	0.990
	HAPMAP-CHD		170	IG	0.012	0.988	1.000	0.006	0.994
	HAPMAP-LWK		178	IG	0.034	0.966	1.000	0.017	0.983
	HAPMAP-MEX		100	IG	0.100	0.900	1.000	0.050	0.950
	HAPMAP-MKK		286	IG	0.119	0.881	1.000	0.059	0.941
	HAPMAP-TSI		176	IG	0.080	0.920	1.000	0.040	0.960
	ENSEMBL_Watson		2	IG		1.000			1.000
ss16360687	POPU1		40	AF				0.050	0.950
ss4328929	PGA-AFRICAN-PANEL	African American	44	IG	0.091	0.909	1.000	0.045	0.955
	PGA-EUROPEAN-PANEL	European	44	IG		1.000			1.000
ss5586942	P1		200	AF	0.090	0.910	1.000	0.045	0.955
	CAUC1		60	AF	0.033	0.967	1.000	0.017	0.983
	AFR1		48	AF	0.167	0.833	1.000	0.083	0.917
	HISP1		46	AF	0.130	0.870	1.000	0.065	0.935
	PAC1		46	AF	0.043	0.957	1.000	0.022	0.978
ss6310582	PDR90	Global	178	IG	0.045	0.955	1.000	0.022	0.978
ss6312899	PDR90	Global	166	IG	0.048	0.952	1.000	0.024	0.976
ss66857510	HSP_GENO_PANEL		120	IG	0.033	0.967	1.000	0.017	0.983
	CEU_GENO_PANEL	European	120	IG	0.017	0.983	1.000	0.008	0.992
	AAM_GENO_PANEL	African American	124	IG	0.065	0.935	1.000	0.032	0.968
	CHB_GENO_PANEL	Asian	90	IG		1.000			1.000
	YRI_GENO_PANEL	Sub-Saharan African	120	IG	0.017	0.983	1.000	0.008	0.992
	JPT_GENO_PANEL	Asian	90	IG		1.000			1.000

Representación alélica mundial más frecuente del rs1800750.
Obtenido de NCBI

El rs(1800629);rs1800629 también originario del Homo sapiens, con la siguiente secuencia genotípica

GAGGCAATAGGTTTTGAGGGGCATG[A/G]GGACGGGGTTCAGCCTCCAGGGTCC

Cromosoma: 6:31575254

Gen del factor de necrosis tumoral alfa (TNFa)

Frecuencia alélica global A=0.0903/452 representa la segunda frecuencia alélica más frecuente

Alelo ancestral G

Significado clínico desconocido

El alelo más frecuente en la población mundial está representado por /G/G) en la población Hispana y mexicana esto se cumple también. El menos frecuente está representado por el haplotipo A/A, en población hispana y mexicana predomina la variante G/G, el alelo mas frecuente G

ss#	Sample Ascertainment				Genotype Detail				Alleles	
	Population	Individual Group	Chrom. Sample Cnt.	Source	A/A	A/G	G/G	HWP	A	G
ss116394700	YRI		2	IG		1.000			0.500	0.500
ss12691494	HapMap-CEU	European	226	IG	0.018	0.310	0.673	0.371	0.173	0.827
	HapMap-HCB	Asian	86	IG		0.070	0.930	1.000	0.035	0.965
	HapMap-JPT	Asian	172	IG		0.047	0.953	1.000	0.023	0.977
	HapMap-YRI	Sub-Saharan African	226	IG	0.009	0.159	0.832	1.000	0.088	0.912
	YRI	Sub-Saharan African	114	IG		0.123	0.877	1.000	0.061	0.939
	CHB	Asian	90	IG		0.067	0.933	1.000	0.033	0.967
	JPT	Asian	88	IG		0.045	0.955	1.000	0.023	0.977
	CEU	European	120	IG		0.433	0.567	0.200	0.217	0.783
	CABG_NORTHAMERICAN		2168	GF	0.037	0.262	0.701	0.050	0.168	0.832
	POP_1		60	GF		0.433	0.567	0.150	0.217	0.783
	POP_2		60	GF	0.133	0.433	0.433	1.000	0.350	0.650
	POP_3		60	GF	0.033	0.333	0.633	1.000	0.200	0.800
	HAPMAP-ASW		98	IG		0.102	0.898	1.000	0.051	0.949
	HAPMAP-CHB	Asian	82	IG		0.293	0.707	0.584	0.146	0.854
	HAPMAP-CHD		170	IG		0.082	0.918	1.000	0.041	0.959
	HAPMAP-GIH		176	IG	0.011	0.102	0.886	0.251	0.062	0.938
	HAPMAP-LWK		180	IG		0.189	0.811	0.752	0.094	0.906
	HAPMAP-MEX		100	IG		0.120	0.880	1.000	0.060	0.940

Representación alélica mundial más frecuente del rs1800629

Obtenido de NCBI 13

El rs(4073) rs4073 igualmente originario de homo sapiens con la siguiente secuencia

TTATCTAGAAATAAAAAAGCATACA[A/T]TTGATAATTCACCAAATTGTGGAGC

Cromosoma: 4:73740307

Gen: CXCL8

Consecuencia funcional: corriente arriba 2kb

Frecuencia alélica global: T=0.4778/2393

Alelo ancestral: A

Significado clínico desconocido.

Para la población hispana la variante más frecuente está representada por el haplotipo A/T, hay una tendencia a la equidad para el alelo A y T en la población Hispana.

ss#	Sample Ascertainment			Genotype Detail					Alleles		
	Population	Individual Group	Chrom. Sample Cnt.	Source	A/A	A/T	T	T/T	HWP	A	T
ss104828688	MXC-SNC-PNC-POP300508.1		552	IG	0.286	0.460		0.254	0.2000	0.516	0.484
	MST-NSD-PNC-POP300508.1		262	IG	0.275	0.359		0.366	0.0030	0.454	0.546
	HCH-NSD-PNC-POP300508.1		30	IG	0.200	0.733		0.067	0.1000	0.567	0.433
	MZH-NSD-PNC-POP300508.1		40	IG	0.100	0.800		0.100	0.0100	0.500	0.500
	MST-NSD-AGP-POP300508.1		48	GF	0.125	0.417		0.458	1.0000	0.333	0.667
	MST-NSD-CHP-POP300508.1		82	GF	0.317	0.341		0.341	0.0500	0.488	0.512
	MST-NSD-PHL-POP300508.1		68	GF	0.235	0.353		0.412	0.1500	0.412	0.588
ss139696080	ENSEMBL_Watson		2	IG		1.000				0.500	0.500
ss144193007	ENSEMBL_Venter		2	IG				1.000			1.000
ss162236803	CEU	European	2	IG		1.000				0.500	0.500
ss163602692	YRI	Sub-Saharan African	2	IG		1.000				0.500	0.500
ss166752426	PGP		2	IG		1.000				0.500	0.500
ss198696004	BANTU		1	IG			1.000				1.000
ss220999794	pilot 1 YRI low coverage panel		118	AF						0.864	0.136
ss232445854	pilot 1 CEU low coverage panel		120	AF						0.425	0.575
ss239727963	pilot 1 CHB+JPT low coverage panel		120	AF						0.333	0.667
ss28460996	CP		156	AF						0.420	0.580
	JPK2		200	AF						0.340	0.660
ss3172099	PGA-AFRICAN-PANEL	African American	48	IG	0.583	0.375		0.042	1.0000	0.771	0.229
	PGA-EUROPEAN-PANEL	European	44	IG	0.136	0.409		0.455	0.7520	0.341	0.659
ss52087785	HSP GENO PANEL		114	IG	0.246	0.509		0.246	1.0000	0.500	0.500

Representación alélica mundial más frecuente del rs4073
Obtenido de NCBI

EL sr(361525) rs361525 igual que todos los casos anteriores originario del Homo sapiens

Secuencia GGCCAGAAGACCCCCTCGGAATC[A/G]GAGCAGGGAGGATGGGGAGTGTGAG

Chromosome: 6:31575324

Gen del factor de necrosis tumoral alfa. (TNFa)

Consecuencia funcional corriente arriba 2KB

Alelo ancestral G.

Significado clínico. Desconocido.

Frecuencia alélica global: A=0.0609/305

Para la población hispana la variante más frecuente está representada por el haplotipo G/G, el alelo mas frecuente G

ss#	Sample Ascertainment			Source	Genotype Detail				Alleles	
	Population	Individual Group	Chrom. Sample Cnt.		A/A	A/G	G/G	HWP	A	G
ss12691495	CABG_NORTHAMERICAN		2148	GF	0.001	0.097	0.902	0.294	0.049	0.951
	ENSEMBL_Watson		2	IG			1.000			1.000
ss16360690	POPU1		40	AF					0.050	0.950
ss16360738	POPU1		40	AF					0.050	0.950
ss4328932	PGA-AFRICAN-PANEL	African American	46	IG		0.087	0.913	1.000	0.043	0.957
	PGA-EUROPEAN-PANEL	European	44	IG		0.136	0.864	1.000	0.068	0.932
ss5586945	P1		200	AF		0.190	0.810	0.752	0.095	0.905
	CAUC1		60	AF		0.067	0.933	1.000	0.033	0.967
	AFR1		48	AF		0.292	0.708	0.752	0.146	0.854
	HISP1		46	AF		0.217	0.783	1.000	0.109	0.891
	PAC1		46	AF		0.217	0.783	1.000	0.109	0.891
ss6310585	PDR90	Global	168	IG		0.155	0.845	1.000	0.077	0.923
ss6312902	PDR90	Global	156	IG		0.154	0.846	1.000	0.077	0.923
ss66859810	HSP_GENO_PANEL		52	IG		0.038	0.962	1.000	0.019	0.981
	CEU_GENO_PANEL	European	68	IG		0.147	0.853	1.000	0.074	0.926
	AAM_GENO_PANEL	African American	122	IG		0.148	0.852	1.000	0.074	0.926
	CHB_GENO_PANEL	Asian	90	IG		0.089	0.911	1.000	0.044	0.956

Representación alélica mundial más frecuente del rs4073

Obtenido de NCBI

Algunos estudios que han descritos la relación entre lesión pulmonar aguda y SIRA han derivado un gran número de genes y sus polimorfismos, de tales estudios mencionaremos solo algunos, Arcaroli estudio el polimorfismo rs1916341/rs2227562/ rs2227564/ rs2227566/ rs2227568/ rs4066 C/G/C/C/C/C de uroquinasa de pacientes con SIRA encontró aumento en el riesgo de mortalidad a 60 días, Gong estudio el polimorfismo de rs1800896 GG de IL 10 relacionado a SIRA encontró un aumento en la susceptibilidad de adquirirlo con un valor de OR = 5.1 en adultos menores de 52 años etc, también se han reportado estudios en lo que se intenta vincular un gen al desarrollo de SIR muchos de ellos alentadores cuando se han intentado ligar con citocinas que están involucradas en la cadena inflamatoria, debemos destacar algunos aspectos interesantes en relación al factor de necrosis tumoral alfa, este último ha sido objeto de múltiples estudios a lo largo de mucho años desde su intervención en múltiples patologías hasta el uso de fármacos inhibidores del mismo, tratando con ello de producir un bloqueo a nivel de cadena inflamatoria y evitar los efectos deletéreos que de su expresión derivan, el TNF- α , es una molécula secretoria no glicosilada, de 17 kDa, producida en el macrófagos, forma un homotrímero de 55 kDa que es reconocido por 2 receptores transmembrana, 1 de 55 kDa (TNFR1 ó p55R ó CD120a) y otro de 75 kDa (TNFR2 ó p75R ó CD120b) de la familia emergente de receptores, ambos receptores por acción proteolítica generan dos receptores más que resultan solubles y que se involucran en la regulación de los niveles circulantes TNF α , este es esencial en la inmunidad del huésped, con actividad antitumoral, antiviral y antimicrobiana. Participa en el crecimiento tisular, diferenciación de tejidos e inmunorregulación. En suero sus niveles van de entre 50 pg/ml y no detectables. Niveles mayores de 100 pg/ml, se asocian con mayor morbilidad. El TNF α estimula la síntesis *de novo* de varios grupos de moléculas de adhesión, produce cambios vasculares, adhesión de leucocitos y promueve la actividad procoagulante. Sus efectos tóxicos (choque e inflamación), son inducidos por apoptosis, mediado por TNFR1. aquellas patologías con un componente inflamatorio y autoinmune han sido relacionadas con aumento en suero, artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico, diabetes mellitus insulino-dependiente o tipo 1, diabetes mellitus no-insulino dependiente o tipo 2 y obesidad asociada a insulino-resistencia y choque séptico. El aumento de la expresión de TNF α en enfermedades crónicas y agudas tiene su explicación en base a los polimorfismos que de él derivan,

la variabilidad de las regiones promotoras, como la participación de factores de transcripción asociados que a su vez modulan la magnitud de la respuesta secretora. El gen que codifica TNF α está ubicado en la región central del MHC, entre los *loci* HLA-B y HLA-D, en el brazo corto del cromosoma 6, en el segmento correspondiente a las moléculas MHC de clase III el *locus* de TNF α posee variedad de sitios polimórficos, tanto en la región codificante como en su vecindad. Se han descrito dos formas de polimorfismo, 1.- comprende los polimorfismos mononucleotídicos, son el objetivo de nuestra investigación y de nuestro interés, pueden estar en el extremo 5' (promotor) o después de la región codificante (región no transcrita del extremo 3'), o bien, dentro del DNA que codifica la proteína. Se han identificado varios de este tipo, destacamos la transición G/A en la posición -308 de la región promotora del gen de TNF α , -308 define los alelos TNF1 (G/G) y TNF2 (G/A y A/A). El alelo TNF2, el más importante en la regulación de la producción de TNF α . Estudios *in vitro* en células estimuladas con lipopolisacárido, indican que las de genotipo TNF2 presentan una mayor sobreexpresión de la citoquina que las de genotipo TNF1, su sobreexpresión ha sido identificada en pacientes con AR y LES principalmente con aumento en el valor estadístico de su expresión en pacientes con AR. La expresión de los polimorfismos -238 y -376 también han sido vinculados con la emergencia de enfermedades autoinmunes y cardiovasculares. Es por ello que para nosotros estos polimorfismos serán el objeto de estudio. Referente al polimorfismo de IL8 -251 T/A, la IL 8 también conocida como factor quimiotáctico, este ha sido descrito como un péptido pequeño, que tiene un peso aproximado de 8-10 kd, que pueden ser producido por los linfocitos, monocitos, leucocitos, PMN fibroblastos, células endoteliales, melanocitos y queratinocitos, juega un papel importante en la quimiotaxis y activación de células inflamatorias, también favorece la lesión vascular y por tanto la migración leucocitaria vascular, a este respecto cabe enfatizar que las especies celulares recién mencionadas tienen un fuerte vínculo en la fisiopatología del SIRA, siendo demostrado en el lavado-bronco alveolar de los pacientes con SIRA, En investigaciones sobre la patogénesis de la enfermedad producida por VSR, se ha demostrado una relación entre polimorfismo de nucleótidos en la secuencia del gen de la IL-8. Este polimorfismo se asocia a la producción creciente de IL-8, que es un potente quimio-atrayente de neutrófilos, además se ha demostrado que ocurre con mayor frecuencia en niños con bronquiolitis por VSR, en los que se han encontrado niveles plasmáticos de IL-8 incrementados asociados a enfermedad severa, y con predominio de neutrófilos. También, se ha demostrado que concentraciones elevadas de IL-8 en

secreciones respiratorias de infantes con bronquiolitis se correlacionan con el número de leucocitos presentes en las mismas, indicando que estas quimiocinas pueden ser responsables de la infiltración del leucocito en la vía aérea durante la infección de vías respiratorias por virus sincicial respiratorio. El gen que codifica a *TNF α* está ubicado en la región central del MHC, entre los loci HLA-B y HLA-D, en el brazo corto del cromosoma 6, en el segmento correspondiente a las moléculas MHC de clase III el locus de *TNF α* posee variedad de sitios polimórficos, tanto en la región codificante como en su vecindad. Se han descrito dos formas de polimorfismo, 1.- comprende los polimorfismos mononucleotídicos, son el objetivo de nuestra investigación y de nuestro interés, Se han identificado varios de este tipo, destacamos la transición G/A en la posición -308 de la región promotora del gen de *TNF α* , -308 define los alelos *TNF1* (G/G) y *TNF2* (G/A y A/A). El alelo *TNF2*, el más importante en la regulación de la producción de *TNF α* . Estudios *in vitro* en células estimuladas con lipopolisacárido, indican que las de genotipo *TNF2* presentan una mayor sobreexpresión de la citoquina que las de genotipo *TNF1*, su sobreexpresión ha sido identificada en pacientes con AR y LES principalmente con aumento en el valor estadístico de su expresión en pacientes con AR. La expresión de los polimorfismos -238 y -376 también han sido vinculados con la emergencia de enfermedades autoinmunes y cardiovasculares. Es por ello que para nosotros estos polimorfismos serán el objeto de estudio. Con respecto a le polimorfismo correspondiente a IL8 -251 T/A, la IL 8 también conocida como factor quimiotactico, es un péptido pequeño, que tiene un peso aproximado de 8-10 kd, pueden ser producido por los linfocitos, monocitos, leucocitos, PMN fibroblastos células endoteliales, melanocitos y queratinocitos, juega un importante factor en la quimiotaxis y activación de células inflamatorias, también favorece la lesión vascular y por tanto la migración leucocitaria tras vascular, a este respecto cabe enfatizar que dentro de la fisiopatología del SIRA están de forma intrínseca bien vinculados los lavados bronco alveolares en los cuales se han identificado colonias de macrófagos y células inflamatorias, es las I-8 uno de los agentes participantes en esta respuesta, en la síntesis de dicha IL En investigaciones sobre la patogénesis de la enfermedad producida por VSR, se ha demostrado una relación entre polimorfismo del gen de IL-8, parte del objetivo de este proyectos de investigación es identificar la probable asociación de los polimorfismos SNP del factor de necrosis tumoral -376 G/A (rs 1800750), -308 G/A (rs 1800629), y -238 G/A (rs 361525), y -251 T/A (rs 4073) de interleucina 8 ambos en busca de susceptibilidad para el desarrollar de SIRA y Sepsis severa en pacientes ingresados en UCI con y sin

diagnóstico de infección por virus H1N1 (véase las figuras 1 y 2 que esquematiza y localización la probable variabilidad de los polimorfismos del (TNF) a e IL-8).

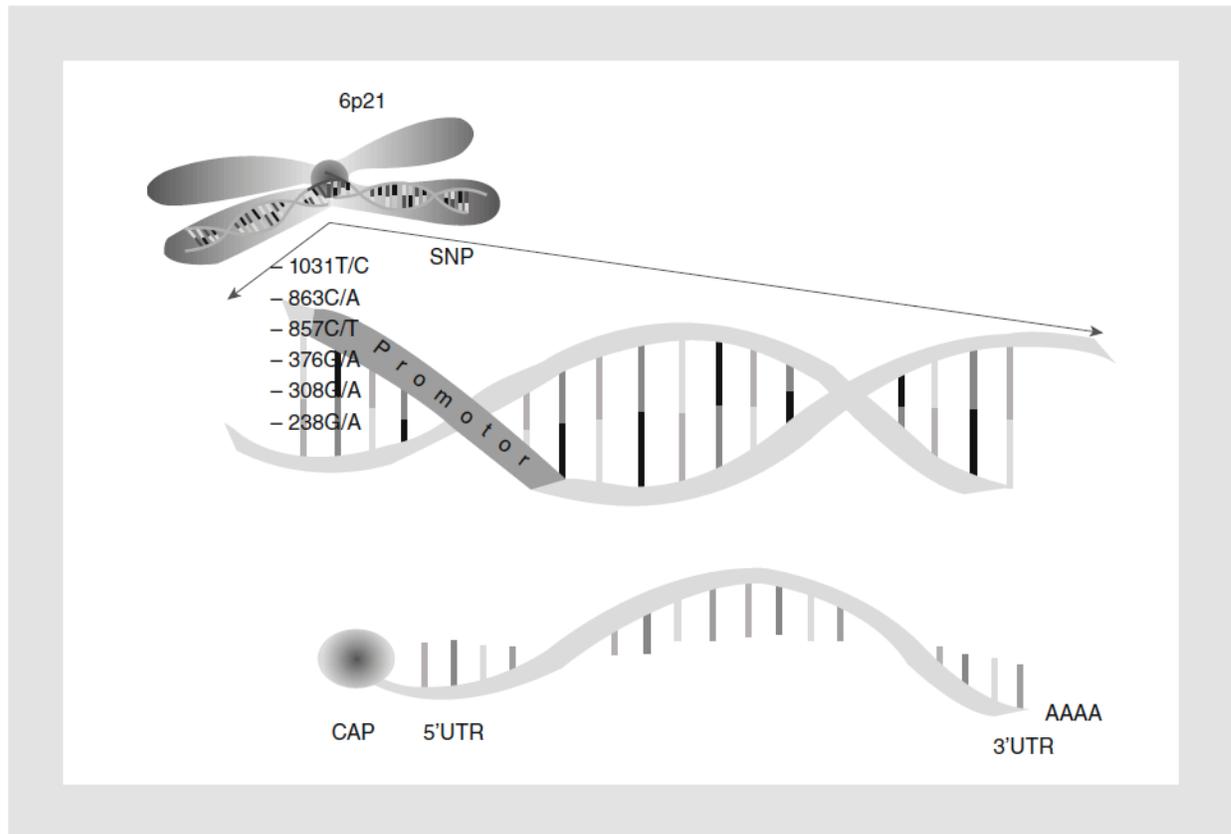


Figura 1.1 representa la localización genómica de una mutación única de nucleótido.

Lagan et al, demostraron el genotipo rs905238 GG de la cadena ligera de la ferritina que constituye un factor de riesgo para la LPA/SIRA, Gong et al; encontraron que el SNP IL10 rs1800896 (+1082) GG incrementa la susceptibilidad en pacientes menores de 52 años y Sheu et al publicaron resultados similares para el rs444490 (+61) A del gen del factor de crecimiento epidérmico exclusivamente en hombres. Por otro lado se demostró que la visfatina (factor estimulante de colonias de células Pre-B, PBEF) está vinculada con la formación de colonias influye en eventos de Sepsis, cáncer colorrectal, obesidad y diabetes, también se han genotipificado en 87 individuos con LPA/SDRA, pacientes con Sepsis y en 84 sujetos controles sanos. Se demostró así que el alelo G incrementaba el riesgo de desarrollar LPA/SDRA en 16 veces. Similares resultados encontraron Bajwa et al, que estudiaron el SNP -1001T/G y el -1543C/T de la visfatina en 375 pacientes con LPA/SDRA y en 787 pacientes críticos.

Como se advirtió con anterioridad existe evidencia que apoya el desarrollo de SIRA por H1N1 enfermedad durante la cual existe una intensa respuesta inmunológica caracterizado por hipercitocinemia (tormenta citoquímica) es decir niveles incrementados de interleucinas tales como; El (TNF) α e interleucina 8 que han sido identificadas en suero de pacientes con SIRA, con respecto al (NTF) alfa citosina proinflamatoria con carácter multifuncional y que es parte de una superfamilia del mismo nombre TNF, dicha citosina es principalmente secretada por macrófagos, el gen que se encarga de su síntesis está localizado en el brazo largo del cromosoma 6 puede unirse a receptores TNFRSF1A / TNFR1 y TNFRSF1B / TNFR. Está involucrada en la regulación de un amplio espectro de procesos biológicos, incluyendo proliferación celular, diferenciación, apoptosis, metabolismo de los lípidos, y la coagulación. También se ha sido implicado en una variedad de enfermedades, incluyendo enfermedades autoinmunes, resistencia a la insulina, y cáncer. Los estudios en ratones knockout también sugirieron su relación con neuroprotección, se han identificado polimorfismos de nucleotido único con los que se ha logrado establecer asociaciones con enfermedades de carácter autoinmune y oncológico. Los polimorfismos del factor de necrosis tumoral -376 G/A (rs 1800750), -308 G/A (rs 1800629), y -238 G/A (rs 361525), y -251 T/A (rs 4073) de interleucina 8, son o han sido objeto de estudio en diferentes rubros médicos tales son los casos de Sam SS1, Teoh BT1, Chinna K2, Abubakar S1, quienes estudiaron la influencia del rs 1800750 en la Infección por el virus del dengue, se investigó la asociación entre IL-12B, IL-10 y polimorfismos del gen TNF- α con la gravedad del dengue. Se observó una asociación protectora de TNF- α alelo 308A y -308GA contra Dengue Hemorrágico mientras que el alelo TNF- α -238A y -238GA se asoció con Dengue hemorrágico y dengue clásico. La variación genética en la región promotora de TNF se ha asociado con las diferencias de expresión, y una serie de enfermedades autoinmunes, infecciosas, y oncológica. Se analizaron ocho polimorfismos de nucleótido único (SNP) comunes (rs746868, rs909253, rs1799964, rs1800630, rs1800750, rs1800629, rs361525, rs1800610 y) para capturar la mayor parte de la variación genética en TNF además de SNPs en linfotoxina-alfa (LTA), variaciones de dicha región promotora se genotipo en un estudio de casos y controles de base poblacional EE.UU. (3.318 casos, 2.841 controles). Prometedores resultados fueron seguidos en un estudio de casos y controles de base poblacional independiente en Polonia (2.228 casos, 2.378 controles). En ambos estudios, las mujeres portadoras del alelo variante de rs361525 estaban en riesgo elevado de cáncer de mama en comparación con el genotipo GG (por alelo OR =

1,18, 95% CI 1,04-1,35; p para la tendencia = 0,008). Otros SNPs no se asociaron significativamente con el riesgo de cáncer de mama. La hipótesis de que los polimorfismos en los genes de respuesta y reparación de tejidos inflamatorios seleccionados contribuyen a la susceptibilidad y la gravedad de la artritis reumatoide es otro estudio en relación a, polimorfismo de TNF. Los polimorfismos en TNFA, IL1B, IL4, IL6, IL8, IL10, PAI1, NOS2A, C1INH, PARP, TLR2 y TLR4, La IL8 781 CC se asoció con la aparición temprana de la enfermedad. El TNFA -238 G / A se distribuye diferencialmente entre los pacientes con AR y controles, pero sólo cuando no se corrige por edad y sexo. Ninguno de los polimorfismos se asocia con la gravedad de la enfermedad. Se describió una asociación entre IL8 781 C / T polimorfismo y la edad de inicio de la AR. Los hallazgos indicaron que puede haber un papel para variaciones en los genes implicados en la respuesta inmune y en la reparación tisular en patogénesis de la AR. Sin embargo, se requieren estudios genómicos y funcionales más grandes adicionales para definir mejor su papel en la AR. también se han investigado la influencia de los polimorfismos y las características clínicas de la leucemia linfoblástica (ALL) pacientes sometidos a trasplante hematopoyético alogénico de células madre (alo-TCMH) utilizando donantes haploidénticos portadores del antígeno HLA-B * 58: 01 / TNF 308A (B * 58: 01-TNF2), se reclutaron un total de 136 B-ALL y 29T / NK todos los casos. Muestras de ADN de los pacientes y sus familiares se tomaron para la tipificación HLA y genotipado de TNF -308 (rs1800629). El B 58: 01-TNF2 el haplotipo en donantes emparentados fue determinada por sus relaciones familiares. los pacientes que utilizan donantes rs haploidénticos llevan B 58: 01-TNF2 tuvieron mayor mortalidad global (p ajustado = 0,039) y la mortalidad a dos años fue mayor (p ajustada = 0,001).

En el estudio de inflamación y candidatos asociaciones de genes relacionados con la inmunidad con la susceptibilidad lesión pulmonar aguda y la gravedad: un estudio de validación. O'Mahony y colaboradores evaluaron las variantes comunes en genes relacionados con la inflamación, la inmunidad innata, la función de las células epiteliales, y la angiogénesis se ha informado de que se asocia con riesgos para la lesión pulmonar aguda y los resultados relacionados. Probaron si las asociaciones previamente notificadas pueden ser validadas en una cohorte independiente en riesgo de ALI. Identificaron 37 variantes genéticas en 27 genes previamente asociados con ALI y los resultados relacionados. Prepararon discriminación alélica ensayos durante 12 SNPs en 11 genes con MAF > 0,05 y genotipo estos SNPs en sujetos de raza blanca de una cohorte de pacientes críticamente enfermos

que cumplieran los criterios para el síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS), seguido por el desarrollo de la LPA, duración de la ventilación mecánica y la muerte en el hospital. Entre los sujetos de raza blanca con SIRS (n = 750), identificaron una asociación nominal entre rs2069832 en IL6 y ALI con susceptibilidad (OR (adj) 1,61; 95% e intervalo de confianza [IC]: 1,04 a 2,48; p = 0,03). En un análisis de sensibilidad se clasificó para el síndrome de distrés respiratorio agudo (SDRA), rs61330082 que fue nominalmente asocia con riesgo de SDRA. el (rs4073) de IL8 fue nominalmente asociado con menos días sin ventilador y el SNPs en NFE2L2 (rs6721961) y NAMPT (rs61330082) fueron nominalmente asociados con la mortalidad a 28 días. Las direcciones del efecto de estas asociaciones nominales fueron en la misma dirección como se informó anteriormente, pero ninguna de las asociaciones sobrevivió corrección de múltiples pruebas de hipótesis. Aunque los análisis primarios no pudieron validar estadísticamente asociaciones, proporcionan cierto apoyo a las asociaciones entre SNPs en IL6 y NAMPT y el riesgo para el desarrollo de la lesión pulmonar y de SNPs en IL8,

insignificantes si no es que nulos aunque en la progresión de la enfermedad puede hallarse un infiltrado radiológico dependiendo de la causa que le de origen, El primer síntoma es la taquipnea asociada con hipoxemia refractaria. Entre 1 a 5 días de suelen existir signos clínicos durante la exploración física, En la radiografía de tórax hay infiltrados alveolares con o sin broncograma aéreo. También pueden surgir hallazgos inespecíficos en los estudios topográficos pueden existir consolidaciones pulmonares con el tiempo las zonas de consolidación se vuelven menos confluentes. Y es muy frecuente encontrar zonas en vidrio despulido

El comportamiento clínico es similar al relacionado a disfunción ventricular diastólica izquierda los signos y

Síntomas de carácter respiratorio, frecuentemente son taquipnea, disnea, cianosis. La fibrosis que sobreviene con el proceso inflamatorio inicial produce disminución de la distensibilidad intrínseca pulmonar generando cambios en el proceso de difusión y ventilación alveolar Existen tres fases que caracterizan a esta enfermedad 4o y el 7o día parénquima pulmonar color rojo oscuro histológicamente existen pequeños exudados hemorrágicos. Alvéolos dilatados parénquima alrededor colapsado y duro. Congestión capilar pulmonar y edema intersticial así como membranas hialinas, existen conglomerados de nmunoglobulinas, fibrinógeno, fibronectina, complemento, como consecuencia del exceso de producción de moco y edema intersticial y alveolar se

Producen atelectasias obstrucción los tabiques alveolares la migración neutrofilica y las citosinas quimiotacticas producen neutrófilos tanto en los alvéolos como en el intersticio. Lo que deriva en necrosis de los neumocitos tipo I, que se desprenden de la membrana basal esta última es más importante en los neumocitos tipo 1 En la fase proliferativa 1 a 3 semanas, el parénquima palidece predomina la producción de tejido conectivo hiperplasia de neumocitos tipo II, hay transición entre los neumocitos I y II Se produce metaplasia escamosa proliferan los fibroblastos y miofibroblastos que derivan en fibrosis la histopatología está en relación con el tiempo de evolución del SIRA, en promedio en el día 35 la fibrosis predomina siendo imposible diferenciar entre uno y otro tejido en la fase fibrotica 3 a 4 semanas hay completa remodelación predomina el tejido colagenoso pleura visceral está engrosada y el parénquima tiene zonas de fibrosis Hay tabiques alveolares engrosados La clásica imagen en panal es muy semejante a la de fibrosis pulmonar idiopática, en pacientes que sobreviven por más de 14 días hay un importante aumento de colágeno y fibrosis pulmonar importante la función

pulmonar puede permanecer moderada a normal, aun cuando existen amplias zonas de fibrosis, lo anterior sugiere cierto grado de reversibilidad de la lesión crónica aunque esto no ha sido demostrado del todo. Por el contrario en otros pacientes sobrevivientes al SIRA se han identificado zonas de fibrosis con importantes cambios en la función pulmonar aunque aún faltan estudios con mayor precisión el tipo y grado de afección en la función pulmonar.

3.-Definición del problema

En la actualidad los institutos de salud de estados unidos, han reportado una incidencia aproximada de 75 paciente con SIRA por cada 100,000 con una mortalidad aproximada de 40 a 60%, en nuestro país no hay hasta el momento adecuados reportes precisos acerca de la mortalidad e incidencia asociados a SIRA, tampoco existe una casuística que defina con exactitud los porcentajes incidencias y mortalidad del SIRA en relación a sus causas, su comportamiento y alternativas de tratamiento, lo anterior justifica un el inicio y seguimiento de estudio de los pacientes con SIRA en nuestro medio, para nuestra población con la finalidad de establecer nuevos conocimiento sobre la etología, fisiopatología, factores determinantes y de riesgo así como nuevas opciones terapéuticas. en nuestro país no hay hasta el momento adecuados reportes precisos acerca de la mortalidad e incidencia asociados a SIRA, hay diferentes formas etiológica de dicha patología tales como embolismo graso, contusión pulmonar, trauma no torácico, choque de cualquier etiología, cráneo hipertensivo, neumonías, coagulación intravascular diseminada, asociada a transfusiones trastornos metabólicos como pancreatitis, uremia, incluso derivado de uso o exposición a tóxicos hidrocarburos tóxicos, cadmio, nitrógeno concentraciones elevadas de O₂, propoxifeno o asociado a fármaco, propoxifeno, barbitúricos salicilatos etc., una de las más importantes etiologías, es la asociación que guarda el desarrollo de SIRA con Sepsis severa y choque séptico reportándose en la actualidad hasta en un 40%, con elevadas mortalidades que han llegado a respetarse hasta en 90%, de lo anterior ha derivado también calificar al SIR como de etiología primaria o bien secundaria, con respecto a el choque séptico y la Sepsis severa

4.- Hipótesis

Ho. Los polimorfismos no representan un factor de riesgo y no están relacionados con el desarrollo y severidad SIRA y Sepsis severa

Ha. Los polimorfismos son un factor de riesgo y están relacionados con el desarrollo y severidad de SIRA Sepsis severa

5.- Justificación

La alta mortalidad asociada a SIRA justifica la búsqueda de nuevas vías de señalización, nuevos conocimientos acerca de la fisiopatología y el establecimiento de nuevas opciones terapéuticas, los ingresos hospitalarios solo en los estados unidos por choque séptico y Sepsis severa abarcan alrededor de 750 millones/ año, respectivamente, de ellos solo 10 319 418 correspondieron a Sepsis, Alberti y colaboradores encontraron que en UTI de Europa y Canadá: de 14,364 ingresos, 4,500 correspondieron a Sepsis, asociada también a SIRA con una mortalidad hospitalaria de 53%., El estudio SOAP (Sepsis Occurrence in Acutely ill Patients) informó que 30 % de los ingresos a las UTI de hospitales europeos se debieron a Sepsis y SIRA, la tasa de mortalidad es de 32.2 %. En México no existe epidemiología reportada de manera constante, sin embargo en el año del 2009 se realizó la Encuesta Nacional de Sepsis, en la que revela que el 27.3 % de los ingresos a las UTI.

6.- Objetivos

6.1 Objetivo General

Determinar el impacto de polimorfismos del factor de necrosis tumoral -376 G/A (rs1800750), -308 G/A (rs1800629), y -238 G/A (rs361525), y -251 T/A (rs4073) de interleucina 8 y su relación con el desarrollo síndrome de dificultad respiratoria aguda y Sepsis severa.

6.2 Específicos

1. Determinar la asociación existente entre SNP'S de la región promotora de los genes TNF α e IL-8 y el desarrollo y mortalidad de pacientes SIRA y Sepsis severa
2. Determinar la correlación existente entre los SNP's de la región promotora de los genes TNF α e IL-8 y la respuesta al tratamiento y microorganismos asociados con SIRA y Sepsis severa

3. Determinar la correlación existente los SNP'S de la región promotora de los genes TNF α e IL-8 y respuesta opciones terapéuticas, modo ventilatorio convencional y no convencional en pacientes con SIRA

7.- Material y métodos

7.1 Diseño

Se trata de un estudio multicentrico tranversal analítico

Para un valor de significancia $P < 0.05$ % es decir un error alfa de 5 %, y un poder estadístico de 80% o bien error beta de 20% aplicando la siguiente ecuación

$Z_a = .05$ estimación de confianza

$Z_b = .20$ error beta

$p =$ ponderada

Dónde: $p = p_2 + rp_1/2$

Software SPSS

Se tomaron 53 pacientes SIRA y sepsis severa 37 con infección y resultados positivos por PCR para H1N1 y 16 sin infección y con resultados negativo por PCR para H1N1.

Empleando la siguiente ecuación para población finita a través de la siguiente:

$Z_a = 1.96.$

$Z_b = .84$

$P_1 0.5$

$P_2 0.8$

7.2 Criterios de inclusión

Pacientes con edad de 18 años de edad en adelante con Diagnóstico de Síndrome de Insuficiencia Respiratoria Aguda

7.3 Criterios de exclusión

Diagnóstico Previo de neumonía, uso de O2 suplementario, diagnóstico de metástasis, Ca pulmonar, insuficiencia cardíaca crónica, diagnóstico previo de fibrosis pulmonar, neuropatía intersticial difusa o todo aquel que afecte la función pulmonar de forma crónica Falta de consentimiento informado..

7.4 Definición de Grupo Control

Todos aquellos pacientes con desarrollo de SIRA y sepsis severa de otro origen diferente a infección por H1N1

Tipo de variable	Variable
Edad	Cuantitativa

	Genero	Cualitativa
	Disfunción orgánica	Cuantitativa
	Estado de choqué	Cuantitativa
	Tensión Arterial Media	Cuantitativa
	PEEP	Cuantitativa
	Fio2	Cuantitativa
	Modo ventilatorio	Cualitativa
	Relación PaO2/Fio2	Cuantitativa
	Presión Meseta	Cuantitativa
	Presión Media Vía Aérea	Cuantitativa
7.5 Definición de Variables	Presión Pico	Cuantitativa
	POLIMORFISO A -376	Dicotomica
	G/A, -308 G/A Y -238 G/A;	
	NTF-a	
Edad	Años cumplidos hasta el momento de la determinación, característica cualitativa del paciente	
Genaro	Masculino o femenino.	
Disfunción Orgánica	Definida como aquella alteración de la homeostasis de un órgano susceptible de ser reversible en 48 hrs y que está definida de la siguiente forma de acuerdo a la escala de Marshall,	
	SISTEMA	DISFUNCIÓN
	ORGÁNICO	
	Respiratorio	Hipoxia que requiere VM al menos por 2 días, SIRA progresivo necesitando PEEP 10 o FiO2 >50%
	Renal	Diuresis ≤500ml/día o Creatinina 265mmol/l (0.5mg/dl) del basal Necesidad de proceder dialítico.

Hepático	Bilirrubina >31 mmol/l Transaminasas superiores al doble del valor Ictero franco.
Cardiovascular	Disminución de la fracción de eyección, aumento de la permeabilidad capilar. Respuesta hipodinámica pese al soporte inotrópico.
Gastrointestinal	Íleo con intolerancia a la alimentación oral más de 5 días, úlcera de stress que requiere transfusión o colecistitis aguda alitiásica.
Hematológico	Tiempo de protombina o TPT >25%, plaquetas $\leq 80\ 000 \times 10^9$, CID.
Neurológico	Alteración mental, coma progresivo. Glasgow ≤ 6 puntos en ausencia de sedación.

Estado de choque

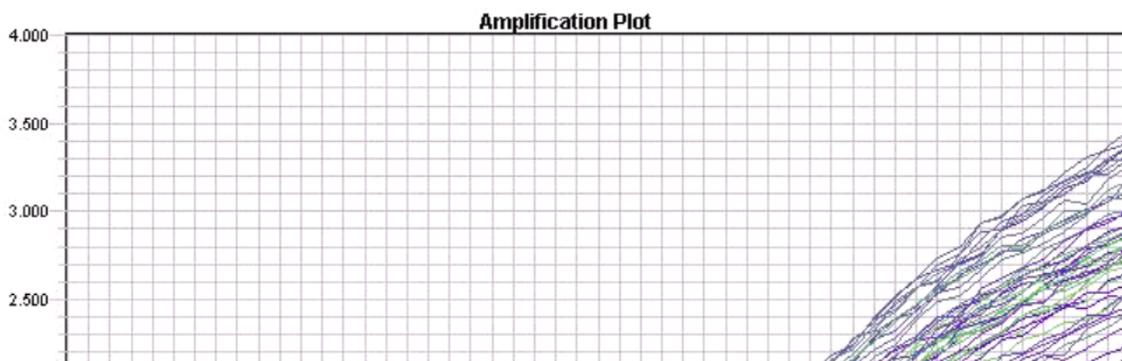
Estado de hipoperfusión persistente, determinado por presiones arteriales medias menores a 65 mmHg, aumento del valor de lactato 2 desviaciones estándar por arriba del valor de referencia, necesidad de apoyo vasopresor, cualquier dosis y cualquier vasopresor. Ya sea

	vasopresina, terlipresina, noradrenalina dopamina, dobutamina o terlipresina
Tensión Arterial Media	A la presión constante que, con la misma resistencia periférica produciría el mismo caudal (volumen minuto cardíaco) que genera la presión arterial variable, su cálculo basado en el área debajo de la curva del monitor de monitoreo invasivo por línea arterial o mediante la ecuación $2PD + PS / 2$
PEEP	Presión positiva al final de la espiración, determinada por el punto de inflexión inferior de la curva volumen/presión, la medición que realizaremos deriva del monitor de ventilación mecánica.
Fio2	Porcentaje inspirado de Oxígeno que emplea el paciente, el anterior determinado por los diferentes métodos de apoyo ventilatorio y el correspondiente % de FiO_2 , el caso de la ventilación mecánica, se medirá a través del monitor de ventilación mecánica.
Modo ventilatorio	Control sistemático programado en la ventilación mecánica para la asistencia o control total del paciente ventilado
Relación PaO2/Fio2	También conocido como índice de kirby establece la relación que existe entre la presión arterial de O_2 por la fracción inspirada de O_2 , representa una medición de la capacidad de captación de O_2 de un sistema relacionado con la fracción de O_2 a la cual está expuesta dicho sistema, es una medición de la capacidad de un sistema de ser capaz de saturarse o bien captar y emplear el oxígeno
Presión Meseta	Presión meseta, plateau o estática es el valor obtenido al final de la inspiración haciendo una pausa inspiratoria y sin flujo aéreo, DETERMINANTE IMPRESINDIBLE DE LA DISTENSIBILIDAD DEL Parénquima pulmonar (su medición se establece en la ventilación mecánica mediante una pausa inspiratoria de la válvula espiratoria
Presión Media Vía Aérea	Promedio de las presiones generadas en la vía aérea

Presión Pico	Representa el valor máximo de la presión relacionada con la resistencia al flujo de aire en la vía aérea y está relacionada directamente con distensibilidad dinámica su medición se realiza también con la medición directa en el monitor del ventilador mecanice
polimorfismo α -376 g/a, -308 g/a y -238 g/a; ntf-a	La variante genética de nucleótido único de uno de los loci del gen de transcripción del factor de necrosis tumoral alfa
-251 t/a de interleucina 8	La variante genética de nucleótido único de uno de los loci del gen que sintetiza a la Interleucina 8

7.6 Purificación del DNA genómico

Previa adquisición del consentimiento informado se realizo toma de muestra de sangre periférica obtenida por medio de venopunción con un equipo bacutainer de ambiente cerrado (BD Microtainer, NJ, EE.UU.), la muestra fue recogida en un tubo de 13X75 que contiene K2 EDTA como anticoagulante (BD Microtainer, NJ, EE.UU.). Una vez que se tomaron las muestras, fueron inmediatamente almacenados a 4 °C utilizando placas de gel para crioconservación y contenedores herméticos para su traslado al Laboratorio de Medicina Genómica del Hospital Regional "Primero de Octubre" del ISSSTE. Se utilizaron 200 μ L de sangre, las muestras se procesaron para la extracción de ADN genómico en el mismo día de su obtención mediante el uso de microcolumnas Illustra (Genómica Blood Mini Kit de preparación de la vuelta) de General Electric Healthcare (Piscataway, NJ, EE.UU.), el DNA genómico fue cuantificado en un espectrofotómetro digital Nanodrop 8000 bajo las longitudes de onda 260, 280 y 320 nm, solamente las muestras que presentaron una relación 260/280 de 2 ± 0.2 , fueron sometidas a homogenización de concentración, obteniéndose 100 μ L de gDNA a una concentración final de 100 ng/ μ L, la integridad del material genético fue analizada por electroforesis electromagnética en gel de agarosa al 2% sobre una cámara Horizon 58, la imagen fue capturada en un fotodocumentador Kodak GelLogistic 2000



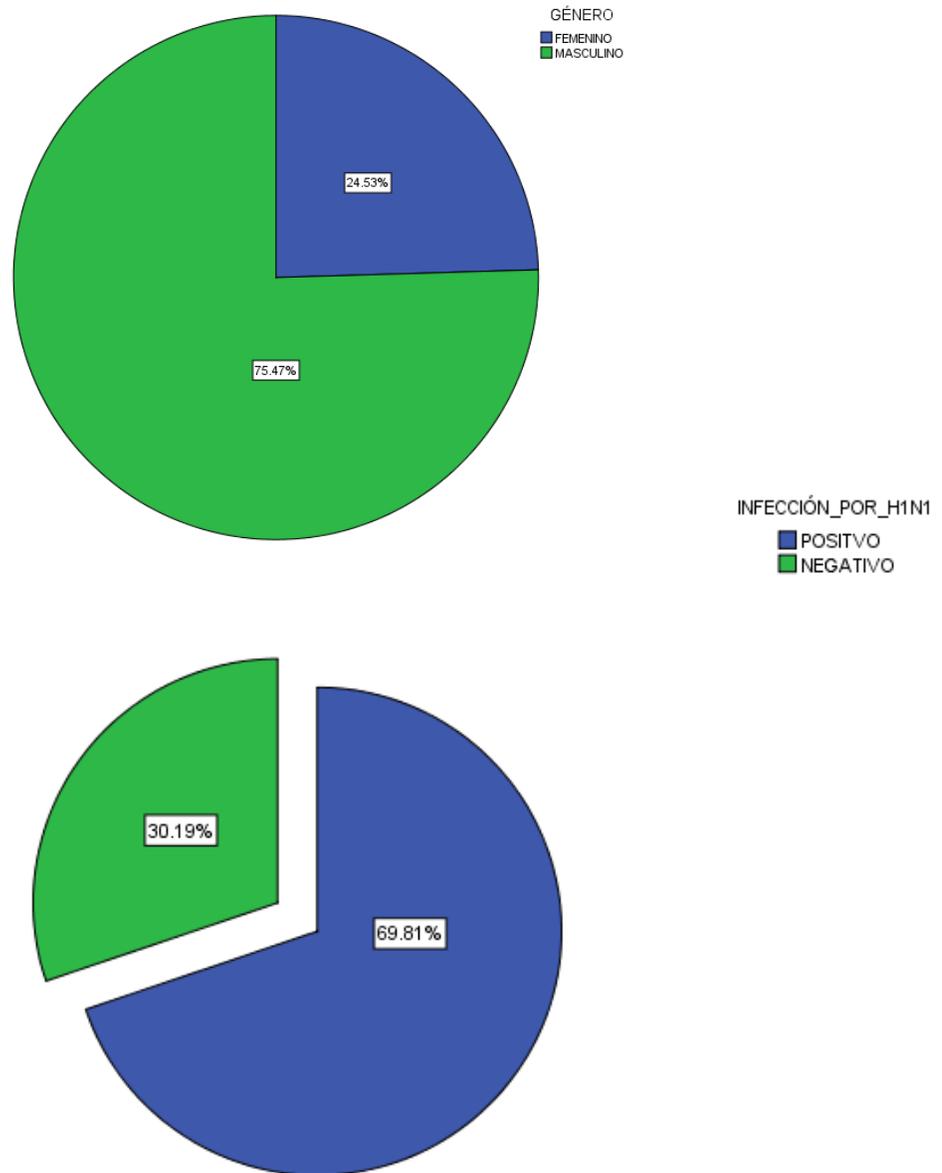
7.7 Genotipificación

La genotipificación del polimorfismo rs4073 (4802A>T) presente en la región codificante del gen CXCL8, así como los polimorfismos rs361525 (4752G>A), rs1800629 (4682G>A) y rs1800750 (4614G>A) presentes en el marco abierto de lectura del gen que codifica para TNF, se realizó mediante pruebas de discriminación alélica a través de la técnica de genotipificación masiva, se utilizaron sondas de hidrólisis con una nucleasa 5' (prueba de discriminación alélica TaqMan). Se utilizaron oligonucleótidos específicos y sondas de hidrólisis marcadas con FAM (6-carboxifluoresceína) y VIC como moléculas reporteras y TAMRA como un inhibidor de fluorescencia (Applied Biosystems, Warrington Cheshire, Reino Unido), la reacción de PCR en tiempo real para el SNP rs4073 se llevó a cabo con los oligonucleótidos sentido 5'- GCCACTCTAGTACTATATCTGTC -3' y antisentido 5'- CTG AAG CTC CAC AAT TTG GTG -3' para amplificar un segmento de 97 pb, la identificación se realizó utilizando las sondas TaqMan específicas para identificar al alelo A 5' - (VIC) GCA TAC AAT TGA TAA TTC (NFQ) 3' y para el alelo T se utilizó la sonda 5'- (FAM) GCA TAC ATT TGA TAA TTC (NFQ) 3', el polimorfismo rs361525 se amplificó con los oligonucleótidos sentido 5'- CAA ATC AGT CAG TGG CCC AG -3' y antisentido 5'- ACA CAA GCA TCA AGG ATA CCC -3' para amplificar un segmento de 84 pb, la genotipificación se realizó con sondas TaqMan específicas para identificar al alelo A 5' - (VIC) CCT CGG AAT CAG AGC AGG GAG (NFQ) -3' y para el alelo G se utilizó la sonda 5' - (FAM) CCT CGG AAT CGG AGC AGG GAG (NFQ) -3', el SNP rs1800629 se amplificó con los oligonucleótidos sentido 5'- GGA AAC AGA CCA CAG ACC TG -3' y antisentido 5'- GGG CCA CTG ACT GAT TTG TG -3' para amplificar un segmento de 110 pb, la genotipificación se realizó se identificó con sondas TaqMan específicas para identificar al alelo A 5' - (VIC) GAG GGG CAT GAG GAC GGG GT (NFQ) 3' y para el alelo G se utilizó la sonda 5' - (FAM) GAG GGG CAT GGG GAC GGG GT (NFQ) 3', el polimorfismo rs1800750 se amplificó con los oligonucleótidos sentido 5'- CCT CAA GGA CTC AGC TTT CTG -3' y antisentido 5'- CAG GTC TGT GGT CTG TTT CC -3' para amplificar un segmento de 96 pb, la genotipificación se realizó con sondas TaqMan específicas para identificar al alelo A 5' - (VIC) CCT GTC TGG AAA TTA GAA GGA AAC (NFQ) 3' y para el alelo G se utilizó la sonda 5' - (FAM) CCT GTC TGG AAG TTA GAA GGA AAC (NFQ) 3'. La reacción de PCR fue conformada con 2.5 µL de 2X TaqMan Genotyping Master Mix, 0.25 µL de 20X del marcador que contenía 10 µM de cada uno de los

oligonucleótidos sentido y antisentido, 5 μ M de cada una de las sondas marcadas con VIC y FAM, la reacción se completó con 2.25 μ L de gDNA a una concentración de 100 ng/ μ L. Las condiciones de termociclado para los diferentes juegos de sondas utilizadas fueron conformadas de la siguiente manera: en un termociclador ABI Prism 7900 (Applied Biosystems) se programaron los siguientes parámetros: linearización a 50 °C durante 2 min y para la desnaturalización del ADN se utilizaron 95 °C durante 10 min, seguido por 40 ciclos de amplificación e hidrólisis a 95 °C durante 15 s (desnaturalización) y 62 °C durante 30 s (hibridización y extensión), los diferentes alelos fueron discriminados de acuerdo a la intensidad de fluorescencia de emitida por FAM y VIC cuando la muestra fue incidida con un haz de luz láser a 492 y 538 nm, la lectura para la discriminación de ambos alelos se realizó a las longitudes de onda de 518 y 554 nm respectivamente, los genotipos fueron clasificados como homocigotos si solo se detectaba la fluorescencia de VIC o FAM, mientras que los heterocigotos se definieron por la presencia de la fluorescencia VIC/FAM simultánea en el pozo.

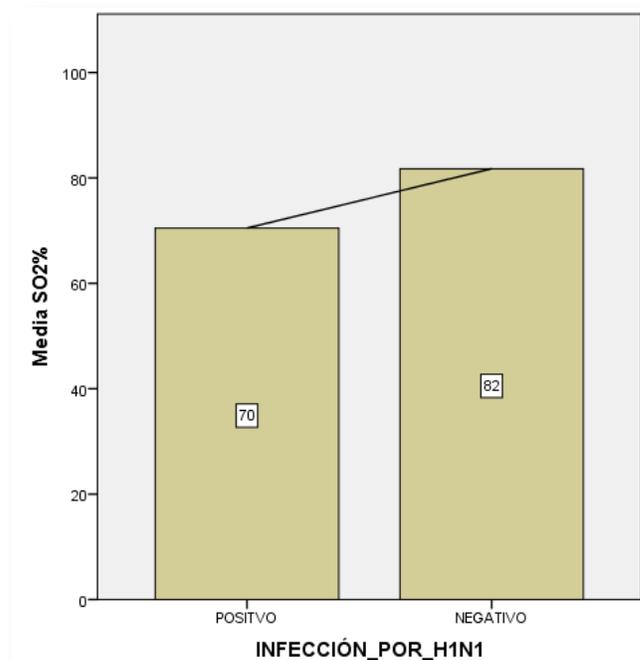
8.0- Resultados

Se incluyeron en el estudio a 53 pacientes con Dx de SIRA, de los cuales el 75.4% fueron del género masculino. Solo 16 (30.1%) pacientes tuvieron resultado negativo a H1N1 y 37 (69.8%) pacientes con resultado positivo.

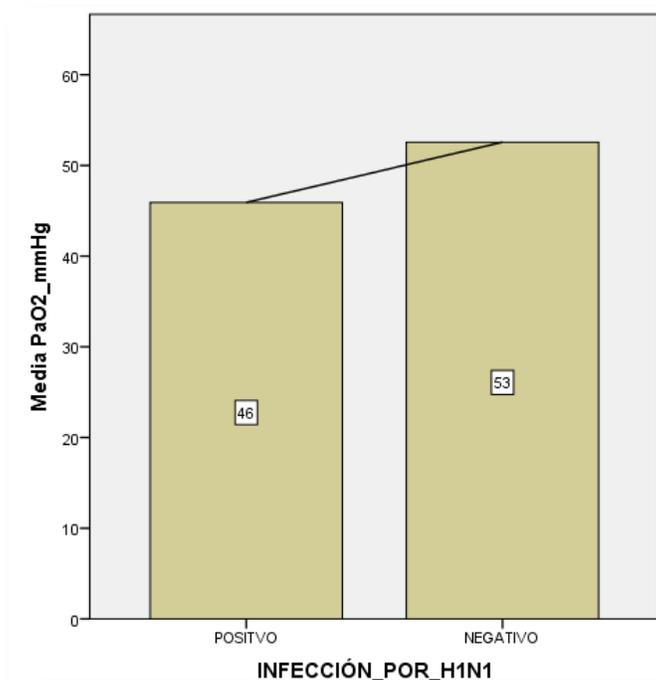


Se compararon las variables clínicas "cuantitativas" entre los 2 grupos (positivo y negativo a H1N1) utilizando prueba t y U de Mann-Whitney dado que las distribuciones de dichas variables fueron de tipo no gaussiana.

De todas las variables se encontró una mayor saturación de O₂% en el grupo negativo a H1N1 con una diferencia estadísticamente significativa (Grupo negativo a H1N1: SatO₂ 81.7±7.7% vs Grupo positivo a H1N1 70.4±15.3%, p=.008).



Del resto de las variables clínicas se encontró mayor presión parcial de oxígeno "PaO₂" en el grupo negativo a H1N1: 52.5±10.07 mmHg vs el grupo positivo a H1N1: 45.9±11.7 mmHg, con una tendencia estadística (p=.055). La no significancia estadística obedece a los intervalos de confianza amplios, lo cual sugiere que con mayor tamaño de la muestra se identificará una diferencia estadísticamente significativa.



No se encontró diferencia estadísticamente significativa con el resto de las variables clínicas entre los dos grupos.

Estadísticos de grupo

	INFECCIÓN POR H1N1	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
EDAD	POSITVO	37	48.19	11.633	1.912
	NEGATIVO	16	48.56	10.948	2.737
DOSIS_NORADRENALIN A_MCGMIN	POSITVO	36	14.17	6.943	1.157
	NEGATIVO	16	15.63	4.559	1.140
PaO2_mmHg	POSITVO	37	45.92	11.753	1.932
	NEGATIVO	16	52.56	10.073	2.518
PaCO2_mmHg	POSITVO	37	43.92	14.270	2.346
	NEGATIVO	16	42.31	9.597	2.399
FIO2	POSITVO	37	.7743	.19135	.03146
	NEGATIVO	16	.7375	.18574	.04644
SO2%	POSITVO	37	70.49	15.354	2.524
	NEGATIVO	16	81.75	7.793	1.948
HCO3	POSITVO	37	12.57	5.140	.845
	NEGATIVO	16	11.25	4.892	1.223
Pa/FiO2	POSITVO	37	1.14	.419	.069
	NEGATIVO	16	1.25	.447	.112
MIDAZOLAM_MCG_KG_H R	POSITVO	36	202.83	69.260	11.543
	NEGATIVO	16	205.19	52.199	13.050
SOFA	POSITVO	37	11.73	3.372	.554
	NEGATIVO	16	11.63	3.538	.884
%_MORTALIDAD_SOFA	POSITVO	37	48.54	26.729	4.394
	NEGATIVO	16	46.31	29.030	7.258
APACHE II	POSITVO	37	25.51	8.681	1.427
	NEGATIVO	16	24.13	9.387	2.347
%_MORTALIDAD _APACHE	POSITVO	37	54.35	26.530	4.362
	NEGATIVO	16	48.19	25.309	6.327

Estadística de Grupo

Prueba de muestras independientes

		Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias						
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Error típ. de la diferencia	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
									Inferior	Superior
EDAD	Se han asumido varianzas iguales	.007	.934	-.109	51	.914	-.373	3.422	-7.243	6.496
	No se han asumido varianzas iguales			-.112	30.220	.912	-.373	3.339	-7.190	6.444
DOSIS_NORADRENALIN A_MCGMIN	Se han asumido varianzas iguales	1.146	.290	-.768	50	.446	-1.458	1.900	-5.274	2.357
	No se han asumido varianzas iguales			-.898	42.505	.374	-1.458	1.624	-4.735	1.818
PaO2_mmHg	Se han asumido varianzas iguales	.519	.475	-1.968	51	.055	-6.644	3.377	-13.422	.135
	No se han asumido varianzas iguales			-2.093	33.083	.044	-6.644	3.174	-13.101	-.187
PaCO2_mmHg	Se han asumido varianzas iguales	1.098	.300	.411	51	.683	1.606	3.911	-6.245	9.457
	No se han asumido varianzas iguales			.479	41.565	.635	1.606	3.356	-5.167	8.380
FIO2	Se han asumido varianzas iguales	.003	.958	.649	51	.519	.03682	.05677	-.07714	.15079
	No se han asumido varianzas iguales			.657	29.351	.517	.03682	.05609	-.07783	.15148
SO2%	Se han asumido varianzas iguales	3.483	.068	-2.773	51	.008	-11.264	4.062	-19.418	-3.109
	No se han asumido varianzas iguales			-3.532	49.504	.001	-11.264	3.189	-17.670	-4.857
HCO3	Se han asumido varianzas iguales	.149	.701	.869	51	.389	1.318	1.516	-1.727	4.362
	No se han asumido varianzas iguales			.886	29.899	.383	1.318	1.487	-1.719	4.354
Pa/FiO2	Se han asumido varianzas iguales	1.222	.274	-.898	51	.374	-.115	.128	-.372	.142
	No se han asumido varianzas iguales			-.875	26.940	.390	-.115	.131	-.384	.155
MIDAZOLAM_MCG_KG_H R	Se han asumido varianzas iguales	2.409	.127	-.121	50	.904	-2.354	19.415	-41.350	36.642
	No se han asumido varianzas iguales			-.135	37.752	.893	-2.354	17.422	-37.632	32.923
SOFA	Se han asumido varianzas iguales	.091	.764	.102	51	.919	.105	1.024	-1.951	2.160
	No se han asumido varianzas iguales			.100	27.341	.921	.105	1.044	-2.036	2.245
%_MORTALIDAD_SOFA	Se han asumido varianzas iguales	.232	.632	.272	51	.787	2.228	8.206	-14.246	18.702
	No se han asumido varianzas iguales			.263	26.528	.795	2.228	8.484	-15.195	19.651
APACHE II	Se han asumido varianzas iguales	.112	.739	.522	51	.604	1.389	2.661	-3.955	6.732
	No se han asumido varianzas iguales			.506	26.630	.617	1.389	2.747	-4.251	7.028
%_MORTALIDAD _APACHE	Se han asumido varianzas iguales	.079	.780	.787	51	.435	6.164	7.832	-9.560	21.888
	No se han asumido varianzas iguales			.802	29.835	.429	6.164	7.685	-9.534	21.862

Estadística de Grupo

Resumen de prueba de hipótesis

	Hipótesis nula	Test	Sig.	Decisión
1	La distribución de EDAD es la misma entre las categorías de INFECCIÓN_POR_H1N1.	Prueba U de Mann-Whitney de muestras independientes	.954	Retener la hipótesis nula.
2	La distribución de DOSIS_NORADRENALINA_MCGMIN es la misma entre las categorías de INFECCIÓN_POR_H1N1.	Prueba U de Mann-Whitney de muestras independientes	.339	Retener la hipótesis nula.
3	La distribución de PaO2_mmHg es la misma entre las categorías de INFECCIÓN_POR_H1N1.	Prueba U de Mann-Whitney de muestras independientes	.063	Retener la hipótesis nula.
4	La distribución de PaCO2_mmHg es la misma entre las categorías de INFECCIÓN_POR_H1N1.	Prueba U de Mann-Whitney de muestras independientes	.764	Retener la hipótesis nula.
5	La distribución de FIO2 es la misma entre las categorías de INFECCIÓN_POR_H1N1.	Prueba U de Mann-Whitney de muestras independientes	.498	Retener la hipótesis nula.
6	La distribución de SO2% es la misma entre las categorías de INFECCIÓN_POR_H1N1.	Prueba U de Mann-Whitney de muestras independientes	.006	Rechazar la hipótesis nula.
7	La distribución de HCO3 es la misma entre las categorías de INFECCIÓN_POR_H1N1.	Prueba U de Mann-Whitney de muestras independientes	.449	Retener la hipótesis nula.
8	La distribución de Pa/FIO2 es la misma entre las categorías de INFECCIÓN_POR_H1N1.	Prueba U de Mann-Whitney de muestras independientes	.379	Retener la hipótesis nula.
9	La distribución de MIDAZOLAM_MCG_KG_HR es la misma entre las categorías de INFECCIÓN_POR_H1N1.	Prueba U de Mann-Whitney de muestras independientes	.691	Retener la hipótesis nula.
10	La distribución de SOFA es la misma entre las categorías de INFECCIÓN_POR_H1N1.	Prueba U de Mann-Whitney de muestras independientes	.808	Retener la hipótesis nula.
11	La distribución de %_MORTALIDAD_SOFA es la misma entre las categorías de INFECCIÓN_POR_H1N1.	Prueba U de Mann-Whitney de muestras independientes	.923	Retener la hipótesis nula.
12	La distribución de APACHE II es la misma entre las categorías de INFECCIÓN_POR_H1N1.	Prueba U de Mann-Whitney de muestras independientes	.613	Retener la hipótesis nula.
13	La distribución de %_MORTALIDAD_APACHE es la misma entre las categorías de INFECCIÓN_POR_H1N1.	Prueba U de Mann-Whitney de muestras independientes	.472	Retener la hipótesis nula.

Se muestran las significancias asintóticas. El nivel de significancia es .05.

Resumen de prueba de hipótesis

	Hipótesis nula	Test	Sig.	Decisión
1	La distribución de IO es la misma entre las categorías de INFECCIÓN_POR_H1N1.	Prueba U de Mann-Whitney de muestras independientes	.047	Rechazar la hipótesis nula.
2	La distribución de PRESIÓN_MEDIA es la misma entre las categorías de INFECCIÓN_POR_H1N1.	Prueba U de Mann-Whitney de muestras independientes	.120	Retener la hipótesis nula.
3	La distribución de PRESIÓN_MESETA es la misma entre las categorías de INFECCIÓN_POR_H1N1.	Prueba U de Mann-Whitney de muestras independientes	.298	Retener la hipótesis nula.
4	La distribución de VOLUMEN_TIDAL es la misma entre las categorías de INFECCIÓN_POR_H1N1.	Prueba U de Mann-Whitney de muestras independientes	.779	Retener la hipótesis nula.
5	La distribución de DISTENSIBILIDAD_ESTATICA es la misma entre las categorías de INFECCIÓN_POR_H1N1.	Prueba U de Mann-Whitney de muestras independientes	.877	Retener la hipótesis nula.

Se muestran las significancias asintóticas. El nivel de significancia es .05.

8.1 Resultados de genotipificación.

En total se analizaron 53 muestras de pacientes con SIRA y hospitalizados en la UCI de los Hospitales; Regional Primero de Octubre, Regional León, Fernando Quiroz todos ellos del Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado y del Hospital Juárez de México de la Secretaría de Salud, los pacientes conformaron 2 grupos de estudio, el grupo experimental fue conformado por 37 pacientes con SIRA secundario a Influenza A H1N1, el grupo control fue integrado por 16 pacientes con SIRA por cualquier otra causa que fuese diferente a la influenza A H1N1, en ambos grupos se identificó el polimorfismo rs 4073 en donde existe un cambio de una Adenina por una Timina, la distribución de los alelos fue de 35 % (n = 17) para el alelo A y de 65% (n = 65) para el alelo T en el grupo de SIRA con influenza AH1N1, mientras que en el grupo control fue del 20% (n = 2) para el alelo A y de 80% (n = 8) para el alelo T, el análisis de genotipos homocigotos fue de 8% (n = 2) para AA y del 38% (n = 9) para TT mientras que el genotipo heterocigoto AT o TA mostró una frecuencia del 54% (n= 13), el polimorfismo rs361525 en donde existe un cambio de una Adenina por una Guanina, la distribución de los alelos fue de 14% (n = 17) para el alelo A y de 86% (n = 65) para el alelo G en el grupo de SIRA con influenza AH1N1, mientras que en el grupo control fue del 0% (n = 0) para el alelo

A y de 100% (n = 30) para el alelo G, el análisis de genotipos homocigotos fue de 100 % (n = 15) para GG, mientras que el genotipo heterocigoto AG o GA y el genotipo homocigoto AA no fueron detectado, el polimorfismo rs1800629 en donde existe un cambio de una Guanina por una Adenina, la distribución de los alelos fue de 89 % (n = 27) para el alelo G y de 11% (n = 8) para el alelo A en el grupo de SIRA con influenza AH1N1, mientras que en el grupo control fue del 97% (n = 29) para el alelo G y de 3% (n = 1) para el alelo A, el análisis de genotipos homocigotos fue de 77 % (n = 27) para GG y del 23 (n = 8) para el heterocigoto AG o GA mientras que el genotipo homocigoto AA no se presentó en ambos grupos de estudio, el polimorfismo rs1800750 en donde existe un cambio de una Guanina por una Adenina, la distribución de los alelos fue de 97% (n = 72) para el alelo G y de 3% (n = 2) para el alelo A en el grupo de SIRA con influenza AH1N1, mientras que en el grupo control fue del 97% (n = 28) para el alelo G y de 3% (n = 1) para el alelo A, el análisis de genotipos homocigotos fue de 94 % (n = 34) para GG y del 6% (n = 2) para el heterocigoto GA o AG, mientras que el homocigoto AA estuvo ausente en ambos grupos. Las distribuciones en general son muy semejantes al descrito en la frecuencia alélica global

8.3 Análisis de Genotipos

El análisis estadístico de las frecuencias genotípicas demostraron los cuatro genotipos estuvieron por arriba del valor umbral de insignificancia estadística, para el SNP rs4073 la comparación de los genotipos AT vs TT mostró una $p = 0.2293$, para el rs361525 la comparación se realizó entre los genotipos AG vs GG dio una $p = 0.6548$, para el SNP rs1800629 se comparó el genotipo homocigoto GG contra el heterocigoto GA o AG siendo la $p = 0.2465$, finalmente se analizaron los genotipos heterocigotos AG o GA vs el genotipo homocigoto GG dando como resultado valor de $p = 1.0$.

8.4 Análisis de haplotipos

El análisis de haplotipos evaluó el efecto sumativo de los diferentes genotipos estudiados, en nuestro caso se analizó el efecto conjunto de los diferentes genotipos encontrados en los SNP rs4073, rs361525, rs1800629 y rs1800750, para el haplotipo AT/GG/GG/GG se presentó una frecuencia de 10 y 20% respectivamente para el grupo control y SIRA-influenza AH1N1, el haplotipo TT/GG/GG/GG la frecuencia fue del 40 y 20% entre el grupo control y SIRA con influenza AH1N1 respectivamente, para el haplotipo AT/AG/AG/GG las frecuencias fueron de 1% para ambos grupos de estudio, TT/GG/GG/GG para los pacientes que tienen menos o más de 40 años el haplotipo mostró una frecuencia del 20% en ambos grupo

9.0 Discusión

9.1 Discusión de las variables clínicas

De los datos analizados de 53 pacientes todos ellos con diagnóstico de SIRA 37 asociados a infección por H1N1 y 17 de causa diferente, no encontramos una importante asociación con los rasgos genéticos planeados, podríamos decir que ambos grupos pudieran corresponder a entidades genotípicas diferentes, para este estudio la asociación de las variables clínicas y los polimorfismo tampoco mostro diferencias significativas, analizamos los datos dividiendo a la población en aquellos que resultados como positivos a la infección por H1N1 y aquellos negativos a H1N1, también se formaron grupos de acuerdo a la frecuencia de los polimorfismos, debe mencionarse que a pesar de contar con diferentes frecuencias de los genotipos el punto determinante del estudio fue encontrar diferencias entre los grupo positivos y negativos a H1N1, lo anterior no resultó ser cierto excepto para algunas variables clínicas las dos más significativas, fueron las siguientes; se encontró una mayor saturación de O₂ en el grupo negativo a H1N1 con una diferencia estadísticamente significativa (Grupo no H1N1: SatO₂ 81.7±7.7% vs Grupo H1N1 70.4±15.3%, p=.008), aun así este hallazgo no necesariamente oferta una conclusión definitiva solo encontramos asociación, que seguramente obedece a la afección alveolar que ya en otros estudios ha sido descrita esto pudieran dar a este resultado cierto validación externa, aun así falta reproducir estudios semejantes y con un mayor número de pacientes, el resto de las variables no lograron significancia estadística aunque en algunos casos se

acercaron o existió cierta tendencia a la misma, lo anterior en parte se explica debido al número de muestra y a la homogeneidad en la población, debe tomarse en cuenta que se trata de una enfermedad estacional y hasta cierto punto endémica, es muy probable que el aumento en el número de la población determine significados estadísticos diferentes, hay claras limitaciones en el estudio, entre ellas y una de la más importante es la poca cantidad de pacientes dada la temporalidad, otra limitante tiene que ver la multivariedad de la etiología, pudieron estar implicados otros gérmenes que desarrollen superantígenos y en consecuencia la suficiente Respuesta inflamatoria como para dar lugar a sepsis severa e incluso choque séptico todo ello en asociación a SIRA, todo ello se apoya en el hecho de que no todos los pacientes con SIRA resultaron ser positivo a infección por H1N1, claro que esto aún no está determinado pero es una teoría interesante pensar que otros gérmenes intervienen en la fisiopatología y desarrollo de la enfermedad como un efecto aditivo que generaría la suficiente RIS para el desarrollo de disfunción pulmonar este es un punto a favor en el estudio y pudiera ser empleado como punto de partida en futuros estudios, así que aún quedan muchas otras alternativas por estudiar, también es interesante resaltar el hecho de que la genética propia del patógeno no ha sido estudiada en una línea genética, las interacciones polimórficas entre el patógeno y el huésped representan otro campo de estudio, y aún más, por el momento restan muchas otras moléculas del propio huésped por estudiaron nuestro estudio solo se empleó como punto de partida

El estudio de dos polimorfismos ya los hemos comentado.

9.2 Discusión de los datos genómicos

El estudio comprendió el análisis de los SNPs rs 4073 del gen que codifica para CXCL8, así como los polimorfismos rs 361525, rs1800629 y rs1800750 que se encuentran en la región codificante del gen TNF, dichos polimorfismos fueron elegidos por presentarse en una región crítica para el plegamiento de las proteínas que codifican, sin embargo el análisis estadístico de las frecuencias genotípicas no reveló diferencia significativa entre los genotipos estudiados, solamente en los polimorfismos rs4073 y rs1800629 presentan una leve tendencia a la significancia con una p de 0.2293 y 0.2465, los cuales pudiesen ser significativas si se ampliara el número de pacientes incluidos en cada uno de los grupos, por otro lado cuando se analizan los haplotipos solamente el compuesto por TT/GG/GG/GG potenció la tendencia hacia lo significativo contando con una p = 0.1484,

Con los datos obtenidos y tomando en cuenta la infección por Influenza AH1N1 como variable de desenlace, los SNPs estudiado no mostraron una correlación directa con el desarrollo de dicha patología. Debido a que ambos grupos de estudio presentan características homogéneas y tomando en cuenta lo restringido de la muestra podemos afirmar que los polimorfismos estudiados en el gen de CXCL8 y TNF no son un factor de riesgo para desarrollar de forma específica SIRA secundaria a Influenza AH1N1, lamentablemente Nuestro estudio tiene varios puntos débiles. Investigo no pudimos dar continuidad al desenlace final de los pacientes aunque esto se pude realizar en un segundo estudio de forma retrolectiva, el efecto de criterios derivados de respuesta inflamatoria sistémica fue documentado dentro de algunas primeras horas después del ingreso en la UCI en el diagnóstico de sepsis grave y choque séptico asociado a pacientes con SIRA, lo cual quiere decir que pudiera haber existido cierta variación que no fue identificada durante la evolución total de los pacientes En segundo lugar, el estudio es pequeño ya explicamos las limitantes que existieron en la adquisición de la muestra. En tercer lugar, los datos consistentes en RiS (mediciones fisiológicas y de laboratorio) pudieran no necesariamente estar asociados en todo momento con RiS y no relacionarse con la genética y respuesta del paciente sino más bien estar relacionadas con algún otro motivo tal como disconfort con la ventilación mecánica o cualquier otro motivo, Los datos se recogieron principalmente para control del paciente y tratamiento. No pudimos definir una población en riesgo de sepsis para evaluar los criterios de RiS y choque séptico para establecer el valor diagnóstico y una relación con la genotipificación. La exactitud del diagnóstico específico de las infecciones no H1N1 no fue definitiva. Algunos de los pacientes que tenían sepsis grave pudieron haberla tenido debido a otra causa y en consecuencia no estar relacionada necesariamente con la infección por H1N1. Por lo tanto, el estudio requiere de una mayor cantidad de pacientes, requiere también valores para validación externa e interna de las variables asociadas a SIR choque séptico y requiere de mayor apoyo en infraestructura para poder determinar las etiologías no H1N1 asociadas al desarrollo de SIRA.

10.0 Conclusiones

Pudimos encontrar diferencias significativas entre grupos la mayo de ellas deriva de la saturación de O₂ que resulta tener peores resultados en paciente con SIRA por H1N1 que en el grupo no H1N1, (Grupo negativo a H1N1: SatO₂ 81.7±7.7% vs Grupo positivo a H1N1 70.4±15.3%, p=.008). También existió diferencia en el valor del índice de oxigenación, (p=.047). y tendencias estadísticas a la significancia en otras variables clínicas y en el resultados de los genotipos (rs4073; p = 0.2293 y rs1800629 p = 0.2465), es posible que con el aumento de la muestra pudiéramos encontrar otras diferencias y que además estén relacionadas con la fisiopatología y susceptibilidad genética de cierta población en la adquisición y severidad e infección por H1N1, es también importante mencionar que las diferencias en el valor de SO₂ y el índice de oxigenación podrían ayudar a diferencias a paciente con SIRA H1N1 y pacientes con SIRA sin H1N1, ello pudiera orientar al clínico en el diagnóstico y en su momento en decisiones terapéuticas, aun así es aun importante mencionar que el estudio requiere reproducibilidad y ampliación de la N, por el momento no existió un alelo o genotipo que pudiera relacionarse con la etiología y susceptibilidad en asociación de la enfermedad aunque insistimos se requiere un estudio más amplio y con objetivos más especificados, no pudimos identificar otros agentes etiológicos que estuvieran en asociación a la genotipificación, esto último representa abre la puerta para futuros temas de estudios.

11.0 BIBLIOGRAFÍA

1. Esteban A, Ferguson ND, Meade MO, Frutos-Vivar F, Apezteguia C, Brochard L, et al. Evolution of mechanical ventilation in response to clinical research. *Am J Respir Crit Care Med.* 177: 170-7, 2008.
2. Phua J, Badia JR, Adhikari NK, Friedrich JO, Fowler RA, Singh JM, et al. Has mortality from acute respiratory distress syndrome decreased over time?: A systematic review. *Am J Respir Crit Care Med.* 179: 220-7, 2009.
3. Zambon M, Vincent JL. Mortality rates for patients with acute lung injury/ARDS have decreased over time. *Chest.* 133: 1120-7, 2008.
4. Ferguson ND, Frutos-Vivar F, Esteban A, Gordo F, Honrubia T, Penuelas O, et al. Clinical risk conditions for acute lung injury in the intensive care unit and hospital ward: a prospective observational study. *Crit Care.* 11:R96, 2007.
5. Arcaroli J, Fessler MB, Abraham E. Genetic polymorphisms and sepsis. *Shock.* 24(4):300- 12, 2005.
6. Hildebrand F, Mommsen P, Frink M, van Griensven M, Krettek C. Genetic predisposition for development of complications in multiple trauma patients. *Shock.* 35: 440-8, 2011.
7. Cardinal-Fernandez P, Nin N, Lorente JA. Acute lung injury and acute respiratory distress syndrome: a genomic perspective. *Med Intensiva.* 35:361-72, 2011.
8. Pipeling MR, Fan E. Therapies for refractory hypoxemia in acute respiratory distress syndrome. *JAMA.* 304: 2521-7, 2010.
9. Little J, Higgins JP, Ioannidis JP, Moher D, Gagnon F, von Elm E, et al. Strengthening the reporting of genetic association studies (STREGA): an extension of the STROBE Statement. *Hum Genet.* 125:131-51, 2009.
10. Colhoun HM, McKeigue PM, Davey Smith G. Problems of reporting genetic associations with complex outcomes. *Lancet.* 361:865-72, 2003.
11. Adamzik M, Frey U, Sixt S, Knemeyer L, Beiderlinden M, Peters J, et al. ACE I/D but not AGT (-6)A/G polymorphism is a risk factor for mortality in ARDS. *Eur Respir J.* 29:482-8, 2007.

12. Marshall RP, Webb S, Bellington GJ, Montgomery HE, Chaudhari B, McAnulty RJ, et al. Angiotensin converting enzyme insertion/deletion polymorphism is associated with susceptibility and outcome in acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med.* 166:646-50, 2002.
13. Medford AR, Keen LJ, Bidwell JL, Millar AB. Vascular endothelial growth factor gene polymorphism and acute respiratory distress syndrome. *Thorax.* 60:244-8, 2005.
14. Ye SQ, Simon BA, Maloney JP, Zambelli-Weiner A, Gao L, Grant A, et al. Pre-B-cell colony-enhancing factor as a potential novel biomarker in acute lung injury. *Am J Respir Crit Care Med.* 171:361-70, 2005.
15. Zhai R, Gong MN, Zhou W, Thompson TB, Kraft P, Su L, et al. Genotypes and haplotypes of the VEGF gene are associated with higher mortality and lower VEGF plasma levels in patients with ARDS. *Thorax.* 62:718-22, 2007.
16. Gong MN, Zhou W, Williams PL, Thompson BT, Pothier L, Boyce P, et al. -308GA and TNFB polymorphisms in acute respiratory distress syndrome. *Eur Respir J.* 26:382-9, 2005.
17. Hildebrand F, Stuhmann M, van Griensven M, Meier S, Hasenkamp S, Krettek C, et al. Association of IL-8-251A/T polymorphism with incidence of Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS) and IL-8 synthesis after multiple trauma. *Cytokine.* 37:192-9, 2007.
18. 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.* 20:864-74, 1992.
19. Dellinger RP, Levy MM, Carlet JM, Bion J, Parker MM, Jaeschke R, et al. Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2008. *Crit Care Med.* 36: 296-327, 2008. (McNamara y col., 2005; Brandenburg y col., 2001; Hull y col., 2000).

ANEXOS

ANEXO 1 HOJA DE RECOLECCION DE DATOS

**HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS
PROTOCOLO DE INVESTIGACION
POLIMORFISMOS ASOCIADOS A DESARROLLO DE SIRA EN PACIENTES DE UCI
HOSPITAL REGIONAL ISSSTE LEON
(POBLACION MEXICANA)
HOJA DE RECOLECCION DE DATOS**

1.-DATOS GENERALES

FECHA: _____
 Nombre del Paciente: _____ Expediente: _____ Edad: _____
 FECHA DE INGRESO: _____
 Género: _____ Peso kg: _____ Talla cm : _____ IMC: _____
 Institución: _____
 Cama y servicio: _____

2.-APP

3.-SIGNOLOGIA VITAL. TA mmHg: _____ TAMmmHg: _____ FClpm: _____ FR rpm: _____ Temperatura °C: _____

4.-Etiología del SIRA y Clasificación por Pa/Fio2

5.-ESTADO NEUROLOGICO GLASGOW/RASS

SEDACION		REAJACION		ANALGESIA	
TIPO	DOSIS	TIPO	DOSIS	TIPO	DOSIS

6.-HEMODINÁMICO

Vasopresor: _____ Tipo: _____ Dosis: _____
7.-MONOTOREO HEMODINAMICO: SIE ES QUE LO TIENE TIPO Y VARIABLES (OPCIONAL)
 TIPO. Q _____, IQ _____, IS _____, RVS _____, IRVS _____, DO _____, IDO _____, FeO2 _____, QS/QT _____, VO _____
 GA-a _____, Da-v _____, CaO2 _____, CcO2 _____, CvO2 _____

8.-VENTILATORIO

Modo ventilatorio: _____
 VTi: _____
 Flujo: _____
 Relación I:E _____
 PEEP: _____
 Fio2: _____
 PRESIÓN PLATO: _____
 PRESIÓN PICO: _____
 PRESION MEDIA: _____
 DISTENSIBILIDAD ESTATICA _____ DISTENSIBILIDAD DINAMICA _____

9.-ESTUDIOS DE LABORATORIO.

BIOMETRÍA

HEMÁTICA:

Leucocitos: _____ Neutrófilos: _____ Linfocitos: _____ Hb: _____ Hto: _____ Plaquetas: _____

10.-QUÍMICA SANGUÍNEA

Glucosa: _____ Urea: _____ Creatinina: _____ AcidoUrico: _____ Proteína C R: _____ alb: _____
 AST: _____ ALT: _____ FA: _____ GGT: _____ BT: _____ alb: _____ PT: _____
GASOMETRÍA ARTERIAL: pH: _____ pO2: _____ pCO2: _____ be-ecf: _____ HCO3: _____ SO2: _____
ELECTROLITOS SERICOS Na: _____ K: _____ Cl: _____ Mg: _____ PO4: _____ Ca: _____

11.-RX DE TÓRAX DESCRIPCION:

12.-TAC DE TORAX DESCRIPCION:

13.-PREDICTORES DE MORTALIDAD APACHE: _____ **SOFA:** _____ **MODS:** _____

DATOS EXTRAS

POLIMORFISMO _____

**ANEXO 2 CONSENTIMIENTO INFORMADO
FORMATO CONSENTIMIENTO INFORMADO**

Se me ha proporcionado el nombre de un investigador que puede ser fácilmente contactado usando el nombre y la dirección que se me ha dado de esa persona.

He leído la información proporcionada o me ha sido leída. He tenido la oportunidad de preguntar sobre ella y se me ha contestado satisfactoriamente las preguntas que he realizado.

*Consiento voluntariamente participar en esta investigación de nombre **POLIMORFISMO EN PACIENTES CON SIRA** para análisis de mi material genético, entiendo que tengo el derecho de retirarme de la investigación en cualquier momento sin que me afecte en ninguna manera mi cuidado médico.*

Nombre del Participante _____

Firma del Participante _____

Fecha _____

Día/mes/año

Si es analfabeto Un testigo que sepa leer y escribir debe firmar (si es posible, esta persona debiera seleccionarse por el participante y no debiera tener conexión con el equipo de investigación). Los participantes analfabetos debieran incluir su huella dactilar.

He sido testigo de la lectura exacta del documento de consentimiento para el potencial participante y el individuo ha tenido la oportunidad de hacer preguntas.

Confirmando que el individuo ha dado consentimiento libremente.

Nombre del testigo _____ Y Huella dactilar del participante

Firma del testigo _____

Fecha _____

Día/mes/año

He leído con exactitud o he sido testigo de la lectura exacta del documento de consentimiento informado para el potencial participante y el individuo ha tenido la oportunidad de hacer preguntas. Confirmando que el individuo ha dado consentimiento libremente.

Nombre del Investigador _____

Firma del Investigador _____

Fecha _____

Día/mes/año

Ha sido proporcionada al participante una copia de este documento de Consentimiento Informado

