



Universidad Nacional Autónoma De México
Facultad de Medicina
División de Estudios de Posgrado e Investigación

Hospital General Dr. Manuel Gea González

*“Análisis de los polimorfismos de los genes de citosinas
IL10, IL8 y TNF α en pacientes con micobacteriosis
ganglionar cervical.”*

TESIS
QUE PARA OBTENER EL DIPLOMA DE ESPECIALIDAD EN
OTOFFINOLARINGOLOGÍA Y CIRUGÍA DE CABEZA Y CUELLO
P R E S E N T A

DRA. OLGA PLOWES HERNANDEZ

DIRECTORES DE TESIS:
DRA. MARÍA ANGÉLICA ALFONSINA OLIVO DÍAZ
DR. HÉCTOR MANUEL PRADO CALLEROS

México, D.F.

Julio 2015



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.

Este trabajo fue realizado en el Hospital General Dr. Manuel Gea González y en la División de Otorrinolaringología y Cirugía de Cabeza y Cuello bajo la Dirección del Dr. Héctor Manuel Prado Calleros.

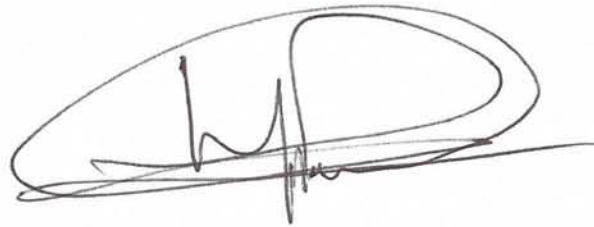
Este trabajo de Tesis con No. 19-126-2014, presentado por el alumno Olga Plowes Hernández se presenta en forma con visto bueno por el Tutor principal de la Tesis Dra. María Angélica Alfonsina Olivo Díaz y Dr. Héctor Manuel Prado Calleros y la División de Enseñanza a cargo del Dr. Octavio Sierra Martínez con fecha del 21 de julio del 2015 para su impresión final.



División Enseñanza
Dr. Octavio Sierra Martínez



Tutor principal
Dra. María Angélica Alfonsina Olivo Díaz



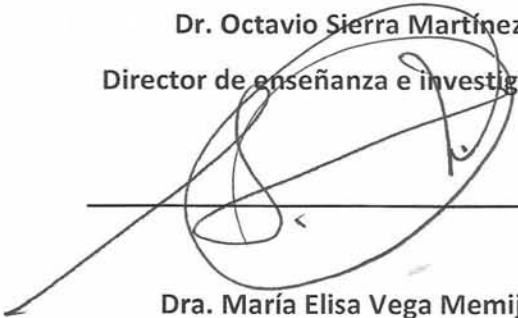
Tutor Principal
Dr. Héctor Manuel Prado Calleros

Autorizaciones

Hospital General "Dr. Manuel Gea González"

Dr. Octavio Sierra Martínez
Director de enseñanza e investigación.





Dra. María Elisa Vega Memije
Subdirección de Investigación



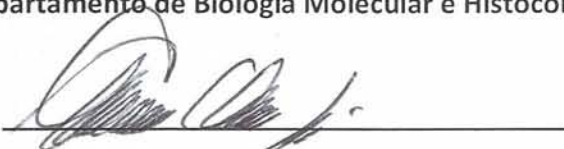
Dr. Héctor Manuel Prado Calleros

Asesor de Tesis y

Jefe de la División de Otorrinolaringología y Cirugía de Cabeza y Cuello


Dra. María Angélica Alfonsina Olivo Díaz,
Asesor de Tesis

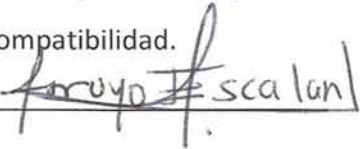
Jefa del Departamento de Biología Molecular e Histocompatibilidad



Análisis de los polimorfismos de los genes de citocinas *IL10*, *IL8* y *TNF α* en pacientes con micobacteriosis ganglionar cervical

Colaboradores:

QC Sara Arroyo Escalante, Química adscrita al Departamento de Biología Molecular e Histocompatibilidad.

Firma 

Tec. Rocío Jiménez Lucio, Técnica adscrita al Departamento de Biología Molecular e Histocompatibilidad.



La tesis No. 19-126-2014 titulada “Análisis de los polimorfismos de los genes de citocinas *IL10*, *IL8* y *TNF α* en pacientes con micobacteriosis ganglionar cervical.” será presentada en el formato artículo de acuerdo a las normas de publicación del Acta Otorrinolaringológica Española disponible en www.elsevier.es/otorrino.

I. PAGINA FRONTAL

Título: Análisis de los polimorfismos de los genes de citocinas *IL10*, *IL8* y *TNF α* en pacientes con micobacteriosis ganglionar cervical.

Autores:

Dra. Olga Plowes Hernández

Dr. Héctor Manuel Prado Calleros

Dra. María Angélica Alfonsina Olivo Díaz

QC Sara Arroyo Escalante

Tec. Rocío Jiménez Lucio

Centro de procedencia: División de Otorrinolaringología y Cirugía de Cabeza y Cuello del Hospital General “Dr. Manuel Gea González”, Distrito Federal, México.

Dirección: Av. Calzada de Tlalpan # 4800, Tlalpan, Sección XVI, 14080 Ciudad de México, México. Teléfono: 015255 4000-3047. Email: draplowes@gmail.com

Numero de palabras: 4142

RESUMEN

Introducción: La tuberculosis cervical ganglionar (TCG) es la manifestación extrapulmonar más común de la enfermedad, con una incidencia del 28% al 56.3%. La presentación de esta entidad es el resultado de la interacción entre factores ambientales y genéticos del hospedero y del agente etiológico. La respuesta inmune contra TB está regulada por varias citocinas que presentan polimorfismos de un nucleótido (SNPs) relacionados con sus niveles de expresión.

Objetivo: El propósito de este trabajo fue determinar la asociación de los SNPs de los genes *IL8*, *IL10* y *TNFA* con el desarrollo de TCG en pacientes de la población mexicana.

Métodos: Se evaluó la asociación alélica, genotípica y de haplotipos de dos SNPs del promotor de *TNFA*, tres de *IL8* y tres de *IL10* en 13 pacientes con TCG y 138 controles del mismo grupo étnico y etario, reclutados de enero a junio de 2015.

Resultados: El alelo *TNFA*-238A ($P= 0.03$; OR [CI95%] 6.7 [1.41-31.82]) y los genotipos *TNFA*-238(G/A), ($P= 0.03$; OR [CI95%] 7.37 [1.44-37.69]) e *IL8*+396(G/G) ($P= 0.01$; OR [CI95%] 8.2 [1.69-39.14]) se asociaron a susceptibilidad para desarrollar TCG. El alelo *IL8*+781C mostró una tendencia de asociación con la enfermedad ($P= 0.08$; OR [CI95%] 2.46 [0.89-6.76]). Los haplotipos *TNFA*-AA e *IL10*-GTA fueron de susceptibilidad a desarrollar TCG, mientras que el haplotipo *IL8*-ATT fue de protección.

Conclusiones: Nuestros hallazgos sugieren que los SNPs de estas citocinas están relacionados con la manifestación de la TGC en pacientes de población mexicana. Sin embargo, es necesario incrementar el tamaño de la muestra, así como incluir polimorfismos de otras citocinas implicados en la patogénesis de esta enfermedad.

Palabras clave: Tuberculosis ganglionar, polimorfismos genéticos, susceptibilidad a enfermedades, citocinas, *IL10*, *IL8*, *TNFA*.

ABSTRACT

Introduction: Lymph node tuberculosis (LNTB) is the most common extrapulmonary disease manifestation, with an incidence of 28% to 56.3%. The expression of this form results from environmental and genetic factors of the host and the etiologic agent. Immune response against TB is regulated by several cytokines which have single nucleotide polymorphisms (SNPs) related to its expression levels.

Objective: The purpose of the present study was to establish the association of *TNFA*, *IL8* and *IL10* SNPs with LNTB in patients of the Mexican population.

Methods: In this study, we evaluated allele, genotype and haplotype associations of two SNPs of the *TNFA* promoter, three of *IL8* and three of the *IL10* genes in 13 patients with LNTB and 138 controls from the same ethnic and age group, recruited from January to June 2015.

Results: The allele *TNFA*-238A ($P= 0.03$; OR [CI95%] 6.7 [1.41-31.82]) and the genotypes *TNFA*-238(G/A), ($P= 0.03$; OR [CI95%] 7.37 [1.44-37.69]) and *IL8*+396(G/G) ($P= 0.01$; OR [CI95%] 8.2 [1.69-39.14]) were associated with susceptibility to develop LNTB. The allele *IL8*+781C showed some association trend with the disease ($P= 0.08$; OR [CI95%] 2.46 [0.89-6.76]). Haplotypes *TNFA*-AA and *IL10*-GTA were of susceptibility, whereas haplotype *IL8*-ATT protective.

Conclusions: Our findings suggest that these cytokine SNPs are related with LNTB manifestation in Mexican population patients. However, it is necessary to increase the sample size, as well as to include other cytokine polymorphisms involved in the pathogenesis of this disease.

Keywords: Lymph node tuberculosis, genetic polymorphism, disease susceptibility, cytokines, *IL10*, *IL8*, *TNFA*.

Introducción

La tuberculosis (TB) fue identificada como emergencia global en 1993 y es la segunda causa de muerte producida por un solo agente patógeno. Mundialmente, cerca de 40 millones de personas se infectan todos los años con *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), de éstos, 8 millones presentan datos de enfermedad clínica. Cada infección tiene un riesgo de 5% a 10% de progresar a enfermedad¹. En México, la TB constituye un problema de salud prioritario. La tasa de incidencia de TB se ha mantenido estable, si se toma en cuenta que la tasa notificada subestima la real, que se calcula en 50 casos por 100,000 habitantes^{2,3}. Diferentes estudios permiten suponer que entre 30% y 40% de la población mexicana adulta está infectada por Mtb⁴⁻⁶ y, por lo tanto, en riesgo de desarrollar TB de reactivación. Por otro lado, se ha documentado que tanto en países desarrollados como en países en desarrollo, incluido México, la frecuencia de transmisión de TB con progresión rápida a enfermedad es de alrededor de 28% a 40%⁷.

La tuberculosis cervical ganglionar (TCG) es la manifestación extrapulmonar más común de la enfermedad⁸, con una incidencia del 28% al 56.3%⁹. Los ganglios linfáticos pueden estar afectados tanto en tuberculosis primaria como en tuberculosis secundaria por diseminación de un foco caseificante hacia la circulación llegando a ganglios linfáticos periféricos o por diseminación contigua. La mayoría de los estudios muestran una predominancia en el sexo femenino con una relación 2:1, lo que resulta de cierta forma paradójica dado que la tuberculosis pulmonar tiene una mayor incidencia en hombres¹⁰. Se presenta en adultos jóvenes con un pico de incidencia de los 20 a los 40 años. Ocurre generalmente de 6 a 9 meses posterior a la infección inicial¹¹. La localización periférica más común es en la región cervical, con preferencia por la cadena ganglionar cervical posterior y supraclavicular. La TCG se manifiesta con linfadenopatías generalmente unilaterales de crecimiento progresivo, indoloras

acompañadas ocasionalmente de síntomas sistémicos como fiebre, pérdida de peso, fatiga y diaforesis nocturna¹². Existe antecedente de contacto con tuberculosis en el 21.8% y de infección por tuberculosis en el 16.1% de los casos¹³. Un interrogatorio y exploración física completa, prueba de tuberculina y tinción ácido alcohol resistente, ayudan a establecer el diagnóstico, que debe ser confirmado mediante histopatología.

La progresión a la TB es el resultado de la interacción entre factores ambientales, factores del hospedero y características de la cepa de Mtb. Se han descrito diferencias en la infección y en el desarrollo de TB entre diversos grupos étnicos¹⁴ y en cepas de animales de laboratorio¹⁵, además de la concordancia de la enfermedad entre gemelos monocigóticos¹⁶ y la agregación familiar¹⁷. En general, un nivel socioeconómico bajo, la presencia de alguna condición que afecte la función normal del sistema inmune (infección por VIH, desnutrición o tratamiento inmunosupresor) aumentan la probabilidad de que un individuo infectado con Mtb desarrolle TB activa.

Las citocinas son glicoproteínas inmunomoduladoras, producidas por una amplia variedad de células que pueden regular positiva o negativamente la división celular, el crecimiento, diferenciación, migración, muerte y la producción de otras citocinas. Una red funcional de citocinas es el elemento central en la homeostasis de la respuesta inmune y alguna alteración en éstas puede desencadenar una respuesta inmune anormal¹⁸.

El perfil genético de un individuo sin duda puede determinar la aparición de la enfermedad activa⁵⁻⁷. En este aspecto, se sabe que la Interleucina 12 (IL-12) y el Interferón gamma (IFN- γ) son factores determinantes en el desarrollo de una respuesta celular efectiva al Mtb y que las mutaciones en los receptores de estas citocinas se han asociado con infecciones diseminadas por Mtb^{16,17}. Los genes del factor de necrosis tumoral (*TNFA*) parecen tener un papel

importante en la patogénesis de la TB, incluyendo la formación de granulomas y la contención de la infección¹⁹.

La respuesta inmune a TB es regulada por interacciones entre linfocitos con células presentadoras de antígeno y las citocinas producidas por estas células. Durante la infección los fagocitos se activan para producir citocinas pro-inflamatorias incluyendo IL-12 y TNFA. La IL-12 induce la producción de citocinas Th1 por las células T y NK (natural killers), como el IFN- γ que activan a los macrófagos infectados para eliminar el Mtb²⁰. La IL-6 secretada por macrófagos está involucrada en la estimulación temprana de la producción de IFN- γ ²⁰. Se sabe que el IFN- γ y la IL-10 juegan papeles opuestos en la inmunidad del hospedero contra TB, ya que la IL-10, una citocina anti-inflamatoria secretada alternativamente por macrófagos activados y células T, inhibe la respuesta Th1 y suprime la expresión de las moléculas MHC clase II, así como la secreción de TNF α y óxido nítrico por macrófagos²¹. La IL-4, un potente inductor de la diferenciación de las células Th2, inhibe las respuestas Th1²². Aunque las citocinas presentan un bajo grado de variaciones genéticas, un creciente número de estudios de asociación han implicado polimorfismos de un nucleótido localizados en regiones promotoras o codificantes de los genes de citocinas como factores del hospedero que influyen en la susceptibilidad a enfermedades infecciosas. Las mutaciones en esos genes pueden dar lugar a sitios de reconocimiento de factores de transcripción alterados, afectando la activación de la transcripción y alterando los niveles de producción de la citocina^{15-17,23-28}.

Dentro de los múltiples marcadores activos potenciales para TB, la IL-10 ha sido implicada en dificultar la respuesta inmune celular asociada a TB activa^{29,30}. Niveles bajos de IL-10 se asocian a pacientes con afección pleural, sin embargo existe controversia sobre su relación con TB pulmonar o ganglionar. Esto se debe a que la tuberculosis pleural es la forma con mayor respuesta inflamatoria local³¹. Tres polimorfismos de un solo nucleótido dentro del gen

promotor a la IL10 en la localización -1082, -819, and -592, han demostrado correlación con la producción de interleucina 10.

La infección por hepatitis B persistente se ha asociado a algunos SNPs en IL-10. La hepatitis B por sí sola no causa enfermedad hepática, sin embargo una respuesta inmune anormal del hospedero hacia el virus puede favorecer el daño crónico y la progresión de la enfermedad. En un meta-análisis reciente, en el cual se incluyeron 24 estudios, se encontró una clara asociación entre IL-10 y hepatitis B persistente, principalmente en población asiática, lo cual es de gran relevancia puesto que la hepatitis B es la principal causa de enfermedad hepática aguda y crónica a nivel mundial³².

El TNF α tiene funciones múltiples en la defensa y patología de la TB. La producción elevada de TNF α se asocia a formas severas de malaria, leishmaniasis mucocutánea y lepra y, en algunos casos, de TB^{33,34}. El TNF α puede actuar de manera sinérgica con el IFN γ activando macrófagos, sin embargo su función principal es la formación de granulomas en TB crónica. En ratones con niveles bajos de TNF α se observó formación de granulomas deficientes con áreas extensas de necrosis, favoreciendo la diseminación de Mtb. La expresión in vivo o in vitro de TNF α , activa la producción de IL-10 y esta interacción (IL-10/TNF α) se encuentra involucrada en la progresión de tuberculosis pulmonar³⁵.

Como puede observarse, varias citocinas están involucradas en la respuesta inmune de TB, pero no existen estudios de estos polimorfismos en formas extrapulmonares de TB o de micobacteriosis, por consiguiente, es importante conocer si algunos de estos SNPs pudieran estar participando en la manifestación de esta forma de la enfermedad. Si cada individuo en riesgo puede ser identificado como potencialmente vulnerable, a futuro se podrán realizar diferentes estrategias de vacunación individualizadas, diagnósticos más tempranos y tratamientos profilácticos en pacientes susceptibles³⁶.

El objetivo de este estudio fue determinar la asociación entre los polimorfismos de los genes de citocinas *IL10*, *IL8* y *TNFA* con el desarrollo de micobacteriosis ganglionar cervical en pacientes de la población mexicana.

Métodos

Se estudiaron pacientes con diagnóstico de micobacteriosis ganglionar cervical confirmada por histopatología, atendidos en el servicio de otorrinolaringología del Hospital General Dr. Manuel Gea González en el periodo de enero a junio de 2015.

Se incluyeron 13 pacientes con diagnóstico confirmado por histopatología de micobacteriosis ganglionar cervical; y el grupo control fue formado por 138 sujetos sin antecedentes, ni presencia de micobacteriosis ganglionar cervical, pareados por edad y residencia con los pacientes.

Posterior a la firma del consentimiento informado por el paciente o por un control, se tomaron 20 ml de sangre periférica de la cual se extrajo el DNA genómico. Se amplificaron 8 polimorfismos de los genes *IL10*, *IL8*, y *TNFA*, mediante PCR (polymerase chain reaction); *IL10* (-1082, -819, -592), *IL8* (-251, +396, +782) y *TNFA* (-238, -308).

Las reacciones se estandarizaron en un volumen de reacción de 20 µL un termociclador de punto final para establecer las condiciones ideales de cada juego de iniciadores. Una vez estandarizada la PCR, se llevó a cabo la reacción en tiempo real con el equipo LightCycler 480 Roche para el análisis por curvas de disociación (High Resolution Meeting), empleando un fluorocromo intercalante como el SYBR green de alta resolución, que al intercalarse con mayor frecuencia que el SYBR green convencional permite evidenciar diferencias en las curvas de disociación de los productos de PCR y determinar las diferencias hasta en un nucleótido ya que su temperatura de disociación es diferente, dependiendo de la secuencia del amplicón. Esto se

traduce en la obtención de una curva de disociación diferente para cada alelo de prueba, permitiendo discernir entre los homocigotos (una sola curva) y los heterocigotos (dos curvas). Se calcularon las frecuencias alélicas y genotípicas por conteo directo y se compararon entre los pacientes y los controles mediante la aplicación de Chi-cuadrada con corrección de Yates, se utilizó la prueba exacta de Fisher cuando la frecuencia fue menor a 5, se consideró una $P < 0.05$ como el mínimo nivel de significancia. Se determinó la razón de Momios y el intervalo de confianza para establecer asociaciones. Los haplotipos de cada gen se obtuvieron mediante el programa Haploview 4.2.

Resultados

En los casos no hubo predilección de sexo, la relación de hombres y mujeres fue 1:1. La media de edad fue de 29.28 años \pm 17.5. Todos los pacientes contaban con diagnóstico por histopatología de micobacteriosis ganglionar cervical. Únicamente uno de los pacientes, 7%, tenía comorbilidades, hipertensión arterial sistémica en control. El grupo control fue de 138 pacientes, con una media de edad de 28.16 \pm 13.6 años; la distribución hombre-mujer fue 1.2:0.8. El grupo control se reclutó de manera aleatoria de la población general, perteneciendo al mismo grupo étnico que nuestros casos.

Se analizaron los polimorfismos de los genes de tres citosinas: *TNFA*, *IL8* e *IL10*, estudiando las frecuencias alélicas, las frecuencias genotípicas y las frecuencias de los haplotipos.

Las frecuencias alélicas de los polimorfismos de *TNFA*, *IL8* e *IL10*, en pacientes con micobacteriosis ganglionar cervical y controles, con modelo codominante se muestran en la **tabla 1**, en la que puede observarse que solamente el alelo *TNFA*-238A está asociado a susceptibilidad ($P= 0.03$; OR [CI95%] 6.7 [1.41-31.82]), lo cual hace que por reciprocidad, el alelo *TNFA*-238A se asocie con protección ($P= 0.03$; OR [CI95%] 0.14 [0.03-0.71]). El alelo

IL8+781C mostró una tendencia de asociación con la enfermedad ($P= 0.08$; OR [CI95%] 2.46 [0.89-6.76]).

El modelo codominante de las frecuencias genotípicas se muestra en la **tabla 2**. Los genotipos *TNFA*-238(G/A), ($P= 0.03$; OR [CI95%] 7.37 [1.44-37.69]) e *IL8*+396(G/G) ($P= 0.01$; OR [CI95%] 8.2 [1.69-39.14]) se asociaron a susceptibilidad para desarrollar TCG, mientras que el genotipo *TNFA*-238(G/G), ($P= 0.03$; OR [CI95%] 0.13 [0.02-0.69]) fue de protección.

La frecuencia de haplotipos de los polimorfismos de *TNFA*, *IL8* e *IL10* se muestra en la **tabla 3**. Los haplotipos *TNFA*-AA ($P< 0.001$; OR [CI95%] 15.82 [2.54-260.13]) e *IL10*-GTA ($P= 0.02$; OR [CI95%] 6.59 [1.02-42.57]) se asociaron con susceptibilidad y el haplotipo *IL8*-ATT ($P= 0.01$; OR [CI95%] 0.27 [0.09-0.83]) con protección.

Discusión

La patogénesis en tuberculosis es dependiente de muchos componentes del hospedero, del patógeno y ambientales. El presente estudio tuvo como objetivo evaluar la posible correlación de los SNPs de los genes *IL8*, *IL10* y *TNFA* con la presencia de micobacteriosis ganglionar cervical.

De acuerdo a Varahram et al., 2014³⁷, los alelos -238A y -857C de *TNFA* son de susceptibilidad para desarrollar tuberculosis pulmonar en pacientes Iraníes ($P= 0.02$; OR [CI95%] 0.6 [0.4-0.9] y $P= 0.00$; OR [CI95%] 5.5 [3.4-9.0], respectivamente), pero no hubo correlación entre la diferentes subtipos de *M. tuberculosis* y los SNPs que estudiaron. En nuestro estudio encontramos resultados similares, el alelo -238A mostró asociación con la susceptibilidad de desarrollar micobacteriosis ganglionar cervical, presentando un riesgo 6.7 veces más en los individuos que llevan este alelo.

Contrario a nuestros resultados, en un estudio con 138 casos de tuberculosis pulmonar, comparado con 419 controles, Correa et al., 2004³⁸, encontraron asociación del alelo *TNFA* -

308A ($P= 0.02$; OR [CI95%]: 1.9 [1.2-3.1]) con la enfermedad y del genotipo -238(G/A) ($P= 0.02$; OR [CI95%]: 0.5 [0.3-0.9]) con protección. Sin embargo, existen estudios cuyos hallazgos sugieren que los polimorfismos de *TNFA* no son un factor de riesgo para el desarrollo de tuberculosis, como es el caso del trabajo de Sharma et al., 2010³⁹, en el que analizan cinco polimorfismos del promotor del gen *TNFA* en pacientes de la India, sin encontrar asociación, concluyendo que los polimorfismos de *TNFA* no son los principales factores de riesgo para desarrollar tuberculosis en la India, aunque están reconocen que el tamaño de su muestra es relativamente pequeño y sería recomendable hacer otros estudios con un tamaño de muestra mayor.

En un meta-análisis reciente sobre la asociación de los polimorfismos del promotor de *IL10*, se describe que el alelo *IL10*-819T se encuentra asociado con mayor riesgo de desarrollar TB en asiáticos ($P=0.003$; OR [95% CI] 1.17 [1.05-1.29]), de la misma manera que sus genotipos, bajo todos los modelos genéticos descritos: TT vs. CC ($P = 0.006$; OR [95% CI] 1.37 [1.09–1.72]), CT+TT vs. CC ($P = 0.006$; OR [95% CI] 1.33 [1.09–1.63]), TT vs. CT+CC ($P= 0.03$ OR [95% CI] 1.17 [1.02–1.35]). Sin embargo, no encontraron asociación en europeos ni en africanos en ninguno de los modelos genéticos⁴⁰. Mientras que el alelo *IL10*-592A ($P=0.03$; OR [95% CI] 0.77 [0.60–0.98]), así como el modelo AA vs. CC ($P = 0.03$; OR [95% CI] 0.53 [0.30–0.95]), mostraron una asociación significativa con protección en europeos. No encontraron asociación con el polimorfismo *IL10*-1082. Los haplotipos GCC y ACC se asociaron a TB en Europeos, mientras que solo el último fue significativo en asiáticos. Nuestro estudio difiere del anterior, ya que no hubo asociación con los alelos ni con los genotipos, únicamente resultó con significancia estadística el haplotipo GTA, que no está presente en las poblaciones analizadas en el meta-análisis.

En la literatura existe solo un estudio en el que analizan micobacteriosis no tuberculosa y el polimorfismo *IL8* -251A>T, sin encontrar asociación⁴¹. En el presente trabajo, describimos por primera vez la asociación de tuberculosis ganglionar cervical y el genotipo *IL8* +396(G/G) y haplotipo *IL8*-ATT, así como una tendencia de asociación del alelo *IL8*+781C.

Sin embargo, sabemos que podemos tener un poder de la prueba bajo, debido al tamaño reducido de la muestra, es por ello que estamos obteniendo intervalos de confianza tan grandes. Debido a lo anterior, consideramos que este estudio deberá ser corroborado con una muestra más grande de pacientes.

Como puede observarse, varias citocinas están involucradas en la respuesta inmune de TB, por consiguiente, si cada individuo puede ser identificado como potencialmente vulnerable, a futuro se podrán realizar diferentes estrategias de medicina individualizada para crear diagnósticos más tempranos, vacunas y tratamientos tanto como preventivos como curativos dirigidos. Un claro ejemplo son las estrategias empleadas actualmente en el desarrollo de tratamiento antituberculosis, basados en una combinación de distintos anticuerpos monoclonales dirigidos contra una toxina específica que han demostrado tener un efecto protector en sujetos vulnerables⁴².

Conclusiones

Nuestros hallazgos sugieren que los SNPs de estas citocinas están relacionados con la manifestación de la TGC en pacientes de población mexicana. Sin embargo, es necesario incrementar el tamaño de la muestra, así como incluir polimorfismos de otras citocinas implicados en la patogénesis de esta enfermedad.

Bibliografia

1. Yim JJ, Selvaraj P. Genetic susceptibility in tuberculosis. *Respirology*. 2010;15:241-56.
2. Azad AK, Sadee W, Schlesinger LS. Innate immune gene polymorphisms in tuberculosis. *Infect Immun*. 2012;80:3343-59.
3. Zhang J, Chen Y, Nie XB, Wu WH, Zhang H, Zhang M, et al. Interleukin-10 polymorphisms and tuberculosis susceptibility: a meta-analysis. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2011;15:594-601.
4. Meenakshi P, Ramya S, Shruthi T, Lavanya J, Mohammed HH, Mohammed SA, et al. Association of IL-1 β +3954 C/T and IL-10-1082 G/A cytokine gene polymorphisms with susceptibility to tuberculosis. *Scand J Immunol*. 2013;78:92-7.
5. Duarte R, Carvalho C, Pereira C, Bettencourt A, Carvalho A, Villar M, et al. HLA class II alleles as markers of tuberculosis susceptibility and resistance. *Rev Port Pneumol*. 2011;17:15-9.
6. Pinheiro MB, Antonelli LR, Sathler-Avelar R, Vitelli-Avelar DM, Spindola-de-Miranda S, Guimarães TM, et al. CD4-CD8- $\alpha\beta$ and $\gamma\delta$ T cells display inflammatory and regulatory potentials during human tuberculosis. *PLoS One*. 2012;7:e50923.
7. Stein CM. Genetic epidemiology of tuberculosis susceptibility: impact of study design. *PLoS Pathog*. 2011;7:e1001189.
8. Munck K, Mandpe AH. Mycobacterial infections of the head and neck. *Otolaryngol Clin North Am*. 2003;36:569-76.
9. Ilgazli A, Boyaci H, Basyigit I, Yildiz F Extrapulmonary tuberculosis: clinical and epidemiologic spectrum of 636 cases. *Arch Med Res*. 2004;35:435-41.
10. Popescu MR, Călin G, Strâmbu I, Olaru M, Bălășoiu M, Huplea V, et al. Lymph node tuberculosis - an attempt of clinico-morphological study and review of the literature. *Rom J Morphol Embryol*. 2014;55:553-67.
11. Rieder HL, Snider DE Jr, Cauthen GM. Extrapulmonary tuberculosis in the United States. *Am Rev Respir Dis*. 1990;141:347-51.
12. Morcillo N. Tuberculosis in children. En: Palomino JC, Leao SC, Ritacco V, editores. *Tuberculosis 2007 from basic science to patient care*. Bernard Sebastian Kamps and Patricia Bourcillier Fund; Belgium, Brazil, Argentina. p. 525-558. <http://www.tuberculosisistextbook.com>.
13. Zaatari R, Biet A, Smail A, Strunski V, Page C. Cervical lymph node tuberculosis: diagnosis and treatment. *Ann Otolaryngol Chir Cervicofac*. 2009;126:250-5.
14. Möller M, de Wit E, Hoal EG. Past, present and future directions in human genetic susceptibility to tuberculosis. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2010;58:3-26.
15. Bellamy R. Genome-wide approaches to identifying genetic factors in host susceptibility to tuberculosis. *Microbes Infect*. 2006;8:1119-23.

16. Hoal EG. Human genetic susceptibility to tuberculosis and other mycobacterial diseases. *IUBMB Life*. 2002;53:225-9.
17. Blackwell JM. Genetics and genomics in infectious disease susceptibility. *Trends Mol Med*. 2001;7:521-6.
18. Newport MJ, Huxley CM, Huston S, Hawrylowicz CM, Oostra BA, Williamson R, Levin M. A mutation in the interferon-gamma-receptor gene and susceptibility to mycobacterial infection. *N Engl J Med*. 1996;335:1941-9.
19. Casanova JL, Abel L. Genetic dissection of immunity to mycobacteria: the human model. *Annu Rev Immunol*. 2002;20:581-620.
20. Flynn JL, Chan J. Immunology of tuberculosis. *Annu Rev Immunol*. 2001;19:93-129.
21. Moore KW, de Waal Malefyt R, Coffman RL, O'Garra A. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. *Annu Rev Immunol* 2001;19:683–765.
22. Biedermann T, Zimmermann S, Himmelrich H, Gummy A, Egeter O, Sakrauski AK, et al. IL-4 instructs TH1 responses and resistance to *Leishmania major* in susceptible BALB/c mice. *Nat Immunol*. 2001;2:1054-60.
23. Bellamy R, Ruwende C, Corrah T, McAdam KP, Whittle HC, Hill AV. Assessment of the interleukin 1 gene cluster and other candidate gene polymorphisms in host susceptibility to tuberculosis. *Tuber Lung Dis*. 1998;79:83-9.
24. Wilkinson RJ, Patel P, Llewelyn M, Hirsch CS, Pasvol G, Snounou G, et al. Influence of polymorphism in the genes for the interleukin (IL)-1 receptor antagonist and IL-1beta on tuberculosis. *J Exp Med*. 1999;189:1863-74.
25. Knight J. Polymorphisms in tumor necrosis factor and other cytokines as risks for infectious diseases and the septic syndrome. *Curr Infect Dis Rep*. 2001;3:427-39.
26. Ansari A, Talat N, Jamil B, Hasan Z, Razzaki T, Dawood G, et al. Cytokine gene polymorphisms across tuberculosis clinical spectrum in Pakistani patients. *PLoS One*. 2009;4:e4778.
27. López-Maderuelo D, Arnalich F, Serantes R, González A, Codoceo R, Madero R, et al. Interferon-gamma and interleukin-10 gene polymorphisms in pulmonary tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2003;167:970-5.
28. Oral HB, Budak F, Uzaslan EK, Baştürk B, Bekar A, Akalin H, et al. Interleukin-10 (IL-10) gene polymorphism as a potential host susceptibility factor in tuberculosis. *Cytokine*. 2006;35:143-7.
29. Tso HW, Ip WK, Chong WP, Tam CM, Chiang AK, Lau YL. Association of interferon gamma and interleukin 10 genes with tuberculosis in Hong Kong Chinese. *Genes Immun*. 2005 Jun;6(4):358-63.
30. Pacheco AG, Cardoso CC, Moraes MO. IFNG +874T/A, IL10 -1082G/A and TNFA -308G/A polymorphisms in association with tuberculosis susceptibility: a meta-analysis study. *Hum Genet*. 2008;123:477-84.

31. John SH, Kenneth J, Gandhe AS. Host biomarkers of clinical relevance in tuberculosis: review of gene and protein expression studies. *Biomarkers*. 2012;17:1-8.
32. Ren H, Zhang TT, Hu WL. A -819 C/T polymorphism in the interleukin-10 promoter is associated with persistent HBV infection, but -1082 A/G and -592A/C polymorphisms are not: a meta-analysis. *Arch Virol*. 2015;160:747-56.
33. Henao MI, Montes C, París SC, García LF. Cytokine gene polymorphisms in Colombian patients with different clinical presentations of tuberculosis. *Tuberculosis*. 2006;86:11-9.
34. Bikmaeva AR, Sibiriak SV. Polymorphism of the tumor necrosis factor alpha in patients with infiltrative tuberculosis and from the Bashkorstan population. *Mol Biol* 2002;36:784-7.
35. Bean AG, Roach DR, Briscoe H, France MP, Korner H, Sedgwick JD, et al. Structural deficiencies in granuloma formation in TNF gene-targeted mice underlie the heightened susceptibility to aerosol *Mycobacterium tuberculosis* infection, which is not compensated for by lymphotoxin. *J Immunol*. 1999;162:3504-11.
36. Scola L, Crivello A. IL-10 and TNF-alpha polymorphisms in a sample of Sicilian patients affected by tuberculosis: implication for ageing and life span expectancy. *Mech Ageing Dev*. 2003;124:569-72.
37. Varahram M, Farnia P, Nasiri MJ, Karahrudi MA, Dizagie MK, Velayati AA. Association of *Mycobacterium Tuberculosis* Lineages with IFN- γ and TNF- α Gene Polymorphisms among Pulmonary Tuberculosis Patient. *Mediterr J Hematol Infect Dis*. 2014;6:e2014015.
38. Correa PA, Gómez LM, Anaya JM. Polymorphism of TNF-alpha in autoimmunity and tuberculosis. *Biomedica*. 2004;24:43-51.
39. Sharma S, Rathored J, Ghosh B, Sharma SK. Genetic polymorphisms in TNF genes and tuberculosis in North Indians. *BMC Infect Dis*. 2010;10:165.
40. Gao X, Chen J, Tong Z, Yang G, Yao Y, Xu F, et al. Interleukin-10 promoter gene polymorphisms and susceptibility to tuberculosis: a meta-analysis. *PLoS One*. 2015 Jun 1;10(6):e0127496
41. Haverkamp MH, Lindeboom JA, de Visser AW, Kremer D, Kuijpers TW, van de Vosse E, et al. Nontuberculous mycobacterial cervicofacial lymphadenitis in children from the multicenter, randomized, controlled trial in The Netherlands: relevance of polymorphisms in candidate host immunity genes. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2010;74:752-4.
42. Kaufmann SH. The contribution of immunology to the rational design of novel antibacterial vaccines. *Nat Rev Microbiol* 2007;5:491–504

Tabla 1. Frecuencias alélicas de los polimorfismos de *TNFA*, *IL-8* e *IL-10* en pacientes con micobacteriosis ganglionar cervical y controles. Modelo codominante.

Alelos	Casos (%)	Controles (%)	<i>P</i>	OR(95%CI)*
<i>TNFA</i>				
-238G	88.46	98.06	0.03	0.14 (0.03-0.71)
-238A	11.54	1.94	0.03	6.70 (1.41-31.82)
-308G	88.46	94.66	0.41	0.39 (0.10-1.52)
-308A	11.54	5.34	0.41	2.53 (0.64-9.74)
<i>IL8</i>				
-251A	73.08	63.04	0.42	1.53 (0.62-3.75)
-251T	26.92	36.96	0.42	0.65 (0.27-1.61)
+396G	57.69	42.81	0.21	1.79 (0.79-4.06)
+396T	42.31	57.19	0.21	0.56 (0.25-1.25)
+781C	80.77	61.38	0.08	2.46 (0.89-6.76)
+781T	19.23	38.62	0.08	0.41 (0.15-1.11)
<i>IL10</i>				
-1082G	38.46	45.31	0.64	0.76 (0.34-1.76)
-1082A	61.54	54.69	0.64	1.30 (0.57-2.98)
-819C	57.69	54.65	0.93	1.12 (0.49-2.53)
-819T	42.31	45.35	0.93	0.89 (0.39-2.02)
-592C	46.15	61.02	0.21	0.55 (0.25-1.24)
-592A	53.85	38.98	0.21	1.81 (0.81-4.08)

* Razón de momios (95% intervalo de confianza). Los caracteres en negritas y cursivas significan asociación. Los caracteres solo en negritas significan tendencia de asociación

Tabla 2. Frecuencias genotípicas de los polimorfismos de *TNFA*, *IL-8* e *IL-10* en pacientes con micobacteriosis ganglionar cervical y controles. Modelo codominante.

Genotipos	Casos (%)	Controles (%)	<i>P</i>	OR(95%CI)*
<i>TNFA</i>				
-238(G/G)	76.92	96.12	0.03	0.13 (0.02-0.69)
-238(G/A)	23.08	3.88	0.03	7.37 (1.44-37.69)
-308(G/G)	76.92	89.32	0.40	0.37 (0.09-1.56)
-308(G/A)	23.08	10.68	0.40	2.68 (0.64-11.24)
<i>IL8</i>				
-251(A/A)	46.15	34.06	0.57	1.67 (0.53-5.25)
-251(T/T)	0.00	7.97	0.62	----
-251(A/T)	53.85	57.97	0.99	0.84 (0.26-2.63)
+396(G/G)	23.08	3.60	0.01	8.2 (1.69-39.14)
+396(T/T)	7.69	17.99	0.58	0.54 (0.07-4.34)
+396(G/T)	69.23	78.42	0.68	0.59 (0.17-2.04)
+781(C/C)	61.54	42.28	0.29	2.10 (0.65-6.80)
+781(T/T)	0.00	19.51	0.17	----
+781(C/T)	38.46	38.21	0.78	1.04 (0.32-3.37)
<i>IL10</i>				
-1082 (G/G)	7.69	10.94	0.91	0.95 (0.11-7.85)
-1082(A/A)	30.77	20.31	0.60	1.83 (0.52-6.42)
-1082(G/A)	61.54	68.75	0.82	0.71 (0.22-2.29)
-819(C/C)	30.77	20.16	0.59	1.85 (0.53-6.48)
-819(T/T)	15.38	10.85	0.97	1.73 (0.35-8.62)
-819(C/T)	53.85	68.99	0.42	0.52 (0.16-1.65)
-592(C/C)	0.00	25.98	0.15	0.22 (0.01-3.77)
-592(A/A)	7.69	3.94	0.93	2.67 (0.29-24.79)
-592(C/A)	92.31	70.08	0.17	3.58 (0.45-28.55)

* Razón de momios (95% intervalo de confianza). Los caracteres en negritas y cursivas significan asociación.

Tabla 3. Frecuencia de haplotipos de los polimorfismos de *TNFA*, *IL-10* e *IL-8* en pacientes con micobacteriosis ganglionar cervical y controles.

Haplotypes	Casos (%)	Controles (%)	<i>P</i>	OR(95%CI) ^d
<i>TNFA</i> ^a				
GG	88.10	93.20	0.34	0.54 (0.15-1.99)
AG	0.40	4.90	0.29	0.08 (0.00-38.90)
AA	11.10	0.50	<0.001	15.82 (2.54-260.13)
GA	0.40	1.40	0.65	0.26 (0.00-144.25)
<i>IL8</i> ^b				
AGC	41.40	27.00	0.32	1.91 (1.05-3.46)
TTC	9.00	15.70	0.15	0.53 (0.22-1.27)
TTT	7.30	14.50	0.10	0.46 (0.18-1.18)
ATC	21.70	13.00	0.10	1.85 (0.87-3.93)
ATT	4.30	14.10	0.01	0.27 (0.09-0.83)
AGT	5.60	9.10	0.34	0.59 (0.19-1.76)
TGC	8.70	5.50	0.38	1.63 (0.54-4.95)
TGT	2.00	1.30	0.69	1.55 (0.17-14.35)
<i>IL10</i> ^c				
ACA	34.90	26.80	0.37	1.47 (0.63-3.45)
GTC	18.90	25.70	0.45	0.67 (0.24-1.86)
ATC	11.20	17.10	0.44	0.61 (0.17-2.16)
GCA	6.70	10.10	0.56	0.62 (0.13-3.12)
ACC	10.40	9.60	0.89	1.09 (0.29-4.13)
GCC	5.70	8.70	0.61	0.64 (0.12-3.54)
GTA	7.20	1.20	0.02	6.59 (1.02-42.57)
ATA	5.10	1.00	0.09	5.29 (0.61-45.88)

^a Haplotipos de TNF: -308, -238; ^b haplotipos de IL-8: -251, +396, +781; ^c haplotipos de IL-10: -1082, -819, -592; ^d Razón de momios (95% intervalo de confianza). Los caracteres en negritas y cursivas significan asociación.