



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO
INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES RESPIRATORIAS

ESTUDIO DE LA SUSCEPTIBILIDAD GENETICA A LA
TUBERCULOSIS EN POBLACION MEXICANA

TESIS DE POSTGRADO
QUE PRESENTA:
DRA. ALEJANDRA RENATA BAEZ SALDAÑA
PARA OBTENER EL GRADO DE:
DOCTORA EN CIENCIAS

TUTOR DE LA TESIS: DR. JULIO GRANADOS ARRIOLA

INER

MEXICO, D. F.

ENERO DE 2004



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

ÍNDICE DE CONTENIDO

Introducción y Antecedentes	1
Justificación	6
Objetivo e Hipótesis	6
Material y Métodos	7
Resultados	10
Discusión	11
Conclusiones	14
Referencias	15
Hoja de Recolección de Datos	20
Tablas	22

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE:

Alejandra Renata
Bag Aldarica

FECHA:

6 de Enero 2004

FIRMA:

Bag

INTRODUCCIÓN

La tuberculosis es una enfermedad infecciosa crónica que está causada por *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb). Actualmente constituye una emergencia global por el aumento alarmante en el número de casos y muertes. Una tercera parte de la población mundial está infectada por Mtb y, se estiman para el año 2005 diez millones de casos y 3.5 millones de muertes debidas a esta enfermedad **(1-4)**. De esto surge la necesidad urgente de realizar investigación básica para el tratamiento, prevención y diagnóstico de esta enfermedad.

La ocurrencia de una enfermedad infecciosa como es el caso que nos ocupa, resulta de la interacción entre factores genéticos y ambientales. El concepto de interacción gen-medio ambiente es el tema central de los estudios epidemiológicos que evalúan causas de enfermedad en las poblaciones humanas. Ninguna enfermedad es 100% genética o 100% ambiental. En estos términos, el estudio de la interrelación entre los factores que determinan susceptibilidad o resistencia genética del hospedero y factores ambientales de exposición al microorganismo, representan uno de los principales elementos del futuro de la investigación, ya que ello proveerá el fundamento científico para medir la magnitud del riesgo de enfermedad asociada a diferentes alelos dado que la exposición existe y, de esta manera dirigirse al diagnóstico, prevención y tratamiento de grupos de riesgo elevado **(5)**.

ANTECEDENTES

En términos generales, el ser humano es resistente a la enfermedad tuberculosa, ya que el 90% de los sujetos infectados jamás desarrollarán la enfermedad activa, pues el bacilo es eliminado por los macrófagos alveolares antes de que se establezca la infección, o bien, el bacilo se multiplica dentro de los mismos, se disemina por vía hematogena a otros órganos, principalmente riñón y hueso; y por vía linfática a ganglios linfáticos regionales, en estos sitios da lugar a la formación de granulomas limitándose así su crecimiento y multiplicación. El granuloma, constituye el foco infeccioso el cual puede ser eliminado, permanecer latente en macrófagos tisulares o bien reactivarse en alguna época de la vida y originar la enfermedad, ésta última posibilidad es la que constituye el 10% de los casos infectados

(6,7). ¿Qué hace diferentes a los que sucumben a la enfermedad y que otros, (90%) puedan enfrentarse exitosamente en contra del bacilo? Es evidente que Mtb es necesario pero no suficiente para el desarrollo de la enfermedad. Es precisamente en este punto en donde los factores genéticos del hospedero y los mecanismos de inmunidad innata y específica son importantes para determinar el estado de infección latente versus enfermedad **(8,9)**.

El papel de la herencia en la determinación de la resistencia o susceptibilidad a la enfermedad se ha ilustrado en estudios realizados tanto en animales de laboratorio como en humanos. En 1955 Lurie inició los estudios que orientaron hacia la influencia de factores genéticos en la susceptibilidad o resistencia a la tuberculosis, al observar que cuando se expuso la misma cepa de conejos a la infección tuberculosa por vía inhalada, unos mostraron resistencia y otros susceptibilidad a dicha infección. Aunque ha sido difícil probar e identificar los genes de susceptibilidad a la tuberculosis en el humano, las evidencias más convincentes de que los factores genéticos son importantes para determinar el desenlace de la infección, provienen de los estudios en gemelos. Estos estudios comparan que tan frecuentes son los casos de tuberculosis entre gemelos monocigotos y dicigotos. Se ha demostrado una concordancia significativamente elevada para la enfermedad entre monocigotos comparada con los dicigotos **(10)**. Otro elemento relacionado al factor genético son las diferencias raciales. En 1990 Stead y cols **(11)** demostraron que la población negra se infecta dos veces más que los blancos viviendo en el mismo ambiente. Por otra parte, también hay informes de que la gravedad de la enfermedad es mayor en esta misma población.

Los intentos para identificar los genes responsables de la susceptibilidad a la tuberculosis se han orientado a los genes del sistema HLA, **(12-17)**; gen del receptor para IFN γ y subunidad p40 y cadena beta-1 del receptor para IL-12 **(18,19)**, TNF α y NRAMP1**(20)**, NRAMP1 **(21)** y gen del receptor de vitamina D **(22)**, entre otros **(23-26)**.

Aunque la susceptibilidad a la tuberculosis en población humana seguramente se debe a la interacción compleja entre factores genéticos y ambientales, se ha demostrado con los estudios previos que es posible identificar factores genéticos en el huésped que dirigen o llevan un riesgo incrementado para desarrollar la enfermedad. Los estudios sugieren un control poligénico de la infección y enfermedad

tuberculosa, y ninguno de los genes candidatos mencionados hasta el momento, ha demostrado jugar un papel principal en la susceptibilidad o resistencia a la tuberculosis en humanos.

Detener la progresión de la infección a la enfermedad requiere de una inmunidad celular adecuada, los estudios genéticos en familias y de casos y controles mencionados anteriormente, cada vez más ponen en evidencia que los factores genéticos desempeñan un papel fundamental en dicha progresión, además de que factores ambientales, el estado nutricional del expuesto y la virulencia de la micobacteria también influyen **(27-30)**. Nuestra hipótesis es que para que un individuo permanezca en estado de infección tuberculosa latente depende de su capacidad para desarrollar una respuesta inmune innata adecuada en contra de la micobacteria.

El papel central de la inmunidad innata y quizá de la adaptativa en tuberculosis lo tiene el macrófago, célula efectora que fagocita y mata al bacilo mediante sus mecanismos microbicidas dependientes e independientes de oxígeno, así mismo produce citocinas como interleucina 12 (IL-12) y osteopontina, además funciona como célula presentadora de antígeno a los linfocitos T CD4+. La IL-12 es un mediador fundamental para el desarrollo de inmunidad celular tipo I, la cual es crucial como respuesta inmune protectora en tuberculosis, ya que promueve la diferenciación de las células T CD4+, T CD8+ y T NK en células productoras de interferón gama (IFN γ), todas ellas, células efectoras de la respuesta inmune celular tipo I. IL-12 e IFN γ también son esenciales para el desarrollo y diferenciación de las células T CD8+ con restricción CD1, células T doble negativas y T CD8+ con restricción MHC-I (células con actividad citotóxica), todas con la habilidad de matar macrófagos infectados, constituyendo otro de los mecanismos efectores de la inmunidad a la infección por Mtb **(31,32)**.

De esta forma, la integridad en el eje IL-12/IFN γ representa la inmunidad protectora capaz de controlar la progresión de la infección a la enfermedad activa en tuberculosis. De hecho, mutaciones en el gen del IFN γ RI **(18,19)** y para la subunidad beta del receptor para IL12 **(IL12RB1) (33,34)** que interfieren con la actividad de IFN γ e IL12 respectivamente, han ocasionado casos de tuberculosis diseminada. Afortunadamente estas mutaciones son muy poco frecuentes, pero es posible suponer a partir de estos estudios, que polimorfismos en los genes que regulan la producción y actividad biológica del IFN γ e IL12 pueden tener un papel decisivo en el control de la progresión a tuberculosis activa. Lo

anterior se demostró recientemente en un estudio de asociación para polimorfismos de IFN γ , en donde los individuos homocigotos para el alelo A (+874), tienen un riesgo mayor para desarrollar tuberculosis activa **(35,36)**. Adicionalmente, IL-12 e IFN γ participan en la formación del granuloma, siendo éste la lesión histopatológica característica de la tuberculosis y esencial para limitar la diseminación de Mtb en la infección y enfermedad. El granuloma se forma debido a una reacción de la hipersensibilidad celular retardada o tipo IV. Esta reacción inicialmente es mediada por macrófagos (inmunidad innata) y más tarde por la respuesta inmune celular tipo Th1, mediada por las células T ayudadoras que reconocen péptidos presentados por las moléculas MHC-II **(7,37-41)**. Estudios genéticos al respecto, demuestran la asociación entre un defecto en los receptores de IL-12 e IFN-g y una falta de respuesta granulomatosa y enfermedad diseminada.

Los conocimientos anteriores sugieren que el eje IL-12/IFN γ es el mecanismo efector de una respuesta inmune efectiva, capaz de controlar la infección tuberculosa y la progresión a enfermedad activa. Nosotros creemos que los genes que controlan la respuesta inmune innata durante la infección por Mtb son fundamentales para el estado de latencia en tuberculosis, favoreciendo el desarrollo de una respuesta inmune celular protectora a través de la modulación de la expresión de factores producidos por monocitos/macrófagos y células dendríticas, que a su vez regulan la producción de IFN γ por células CD4+, CD8+ y NK **(42)**.

Para identificar otras asociaciones genéticas potenciales con la susceptibilidad a la tuberculosis, nosotros proponemos demostrar la participación de un gen relacionado con la actividad de IFN γ , para ello, estudiamos en mestizos mexicanos variantes de un gen expresado en el pulmón, que controla la respuesta inflamatoria local y está relacionado con la actividad de IFN γ , el gen *CC16*, el cual codifica para una glucoproteína secretora de 16 kilodaltons producida por las células de Clara del epitelio bronquial (*CC16*), específicamente bronquiolos terminales **(43-46)**. Cada vez hay más evidencias que sugieren que *CC16* juega un papel protector fundamental del estrés oxidativo y respuesta inflamatoria en el tracto respiratorio. Es la proteína más común en lavado bronquioloalveolar de sujetos no fumadores, constituye el 7% del total del contenido de proteína. Reacciona con transglutaminasa para

formar un complejo capaz de suprimir o inhibir la antigenicidad de proteínas extrañas. Esto protege a las células embrionarias y espermias del sistema inmune de defensa materno en el tracto genitourinario. A concentraciones micromolares inhibe la quimiotaxis de monocitos y neutrófilos, por lo tanto previene la infiltración de células inflamatorias. En el aparato respiratorio regula la quimiotaxis de las células inflamatorias, inhibe la actividad de fosfolipasa A2 y adicionalmente disminuye la producción y actividad biológica de interferón gama (IFNg), lo que le confiere actividad antiinflamatoria **(43,47)**. Como se ha mencionado anteriormente, el IFNg es una citocina que es crucial en la respuesta inmune celular y para la formación del granuloma en la tuberculosis **(18,38,39,48-50)**. Se ha descrito que en ratones inmunodeficientes de IFNg **(51)** y humanos que son portadores de defectos genéticos en el receptor de esta citocina, desarrollan tuberculosis diseminada.

El gen CC16 se localiza en el cromosoma 11q13 entre los marcadores D11S16 y D11S97 en una región ligada a atopia e hiperreactividad bronquial. Tiene 4995 pares de bases que incluyen: una región 5' no transcrita de 550 bp y 3 exones cortos de 118, 187 y 135 bp respectivamente. Es genéticamente polimórfico, la sustitución de A por G en la posición 38 (A38G) en una región del exon 1 (5'UTR) **(44)**, genera un polimorfismo dialélico de nucleótido único **(52)**. Interesantemente el alelo A de *CC16* se ha asociado a niveles plasmáticos disminuidos de *CC16* **(53)** y susceptibilidad a asma **(44)**. Estos hallazgos nos han hecho formular la hipótesis siguiente: que el alelo A de CC16 podría estar sobre-expresado en sujetos resistentes a la progresión a la enfermedad, después de la infección por Mtb y esto condicionar niveles disminuidos de CC16, por lo tanto aumento de la actividad de IFN-gamma y finalmente la ausencia de progresión a la enfermedad.

JUSTIFICACIÓN

Se sabe ya que factores genéticos pueden controlar la susceptibilidad a la progresión a la enfermedad, sin embargo los genes principales aún no se han identificado y tampoco conocemos cual es la contribución de estos genes a la respuesta inmune, por lo que se requiere de más estudios para determinar la contribución específica de un gen o grupo de genes a este respecto.

Igualmente, están en desarrollo estudios para determinar el papel de los polimorfismos genéticos y su asociación con la tuberculosis activa.

El estudio de variantes genéticas en diferentes poblaciones y ambientes redundará en un mejor entendimiento de los factores claves de la inmunidad a la tuberculosis y, quizá, posteriormente contar con la posibilidad de ofrecer nuevas opciones para el tratamiento y diseño de vacunas, así como en la prevención al identificar grupos de riesgo elevado.

OBJETIVO

Identificar la asociación entre variantes del gen *CC16* (A/G) con la susceptibilidad a la enfermedad tuberculosa en pacientes mestizos mexicanos.

HIPÓTESIS

Existe asociación entre variantes del gen *CC16* (A o G) y la susceptibilidad a la enfermedad tuberculosa

Diseño del Estudio:

Casos y controles. Estudio de Asociación Genética

GRUPOS DE ESTUDIO

A) 108 pacientes con tuberculosis comprobada bacteriológicamente (TBPCB)

Criterios de Inclusión

- 1.- Edades 15 años en adelante
- 2.- Estudio bacilosκόpico en expectoración positivo y/o cultivo positivo para MTb
- 3.- Que acepten participar en el estudio

Criterios de exclusión

1.- Pacientes con inmunosupresión ya sea por, diabetes, infección VIH, en tratamiento inmunosupresor o enfermedad neoplásica

B) Grupo control

111 Individuos con infección tuberculosa latente

Criterios de inclusión

- 1.- Edades de 15 años en adelante
- 2.- Reacción a la prueba tuberculínica PPD \geq 10 mm de induración
- 3.- Asintomáticos, asinológicos y con telerradiografía de tórax sin lesión pleuropulmonar

Criterios de Exclusión

- 1.- Sujetos con cualquier tipo de enfermedad

MATERIAL Y MÉTODOS

Los casos se captaron de la consulta externa y de hospitalización del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias (INER), y los controles de la consulta externa del mismo instituto. El INER es un instituto de tercer nivel de atención, en donde se atienden pacientes con todo tipo de enfermedades respiratorias, entre ellas tuberculosis pulmonar con o sin patología asociada. La captación de pacientes y controles se realizó de junio de 1998 a febrero del año 2001.

Mestizo mexicano, se define como un individuo que nació en México al igual que sus últimas dos generaciones, es un descendiente de habitantes nativos de dicha región y de individuos principalmente de España o África, quienes migraron a América durante el siglo XVI **(54)**

La definición de caso de tuberculosis se estableció en base a baciloscopia positiva en expectoración y alteraciones radiológicas representativas de tuberculosis. Finalmente el caso se confirmó mediante el cultivo de expectoración positivo para Mtb.

A todos los pacientes se les practicaron los siguientes estudios de laboratorio: Biometría hemática completa, perfil hepático, glucosa sérica y ELISA para VIH, baciloscopia y cultivo de expectoración para MTB.

Los pacientes se siguieron por un período de un año para conocer el desenlace de la enfermedad, ya sea curación, recaída o fracaso al tratamiento

Definición de controles: Estos fueron sujetos sanos, con tres baciloscopias negativas en expectoración, telerradiografía de tórax sin lesión pleuropulmonar y con una induración de 10 o más mm al derivado protéico purificado (PPD).

Para la inclusión de los sujetos en el grupo control, se les aplicó el PPD-S con la técnica de Mantoux siguiendo las recomendaciones convencionalmente establecidas tanto para la lectura como para la aplicación (55,56). La lectura se realizó a las 72 horas después de la aplicación. Los sujetos que mostraron una induración de 10 mm o mas y con una telerradiografía de tórax sin lesiones pleuropulmonares se incluyeron en el estudio. Este grupo constituye a los sujetos con infección tuberculosa latente, pero sanos. Se determinó si eran sanos en base a historia clínica y exploración física.

Los casos y los controles fueron del mismo grupo étnico, mestizos mexicanos, del mismo nivel socioeconómico y pareados por edad y sexo.

Todos los pacientes y los sujetos del grupo control fueron VIH negativos y no relacionados hasta la tercera generación.

A los casos y los sujetos del grupo control se les extrajeron 5 ml de sangre periférica por venopunción para realizar el estudio de polimorfismo de *CC16*.

A todos los participantes se les informó verbalmente de los objetivos del estudio, así como de los riesgos de la toma de la sangre y dieron su consentimiento oral informado.

Análisis del polimorfismo *CC16*

Se extrajo DNA genómico a partir de células mononucleares de sangre periférica, utilizando la técnica de expulsión salina.

Para el estudio del gen CC16, se utilizaron iniciadores específicos de secuencia, que delimitaron el gen para su posterior amplificación mediante la técnica de reacción de polimerasa en cadena. Dichas secuencias ya han sido publicadas (57) y son: EXON 1: 5' CAGTATCTTATGTAGAGCCC 3' y 5' CCTGAGAGTCTAAGTCCAGG 3', EXON 2: 5' CCTGGAGACATGTGCCTTCTCTCC 3' y 5' CCGGCCGGGAAGCCACTTCTAACC 3', exon 3: 5' GCAATTCATTCCTGTTGTATTGGG 3' Y 5' GAGATGCTTGTGGTTTATTGAAGAG 3', mismas que amplifican los tres exones relevantes en el gen *CC16*. Para cada exon se requirió 100 ng de DNA genómico en una mezcla que contenía los siguientes reactivos: 3 pmol de cada iniciador (5', 3'), 0.5U de polimerasa de DNA, buffer de reacción (67 mmol/l) de Tris-HCl, pH 8.8 y 16 mmol/l de sulfato de amonio al 0.45% v/v con tritón X-100, a una concentración de 0.2 mg/ml. Además 1.5 mmol de cloruro de magnesio y finalmente 200 mmol de cada uno de los 4 deoxinucleótidos.

Las condiciones experimentales se programaron de la siguiente manera:

5 minutos de desnaturalización a 95°C, seguidas de 35 ciclos constituidos por 95°C un minuto, 58°C un minuto y 72°C dos minutos. La extensión final se efectuó durante 10 minutos a 72°C. El producto de la reacción se verificó mediante electroforesis en gel de agarosa al 2% incluyendo bromuro de etidio a una concentración de 1.5 microgramos/ml.

Los fragmentos de PCR fueron: para el exón 1, 258 pares de bases, para el exón 2, 275 pares de bases y para el exón 3, 191 pares de bases.

El análisis de los genotipos se realizó mediante la endonucleasa de restricción *Sau96I*. La digestión se analizó en una electroforesis de gel de agarosa al 2% que contenía bromuro de etidio a una concentración 1.5 mcg/ml utilizando un transiluminador con una longitud de onda de 300 nanómetros.

El alelo A se determinó por la presencia de una banda no digerida de 258 bp mientras que el alelo G por una banda de dos fragmentos uno de 128 bp y otro de 130 bp respectivamente conforme a métodos descritos en publicaciones previas (44,45).

Niveles Plasmáticos de *CC16*

Para conocer si el alelo *A* de *CC16* tiene efecto directo sobre los niveles de *CC16*, se midieron las muestras de 36 casos y 39 controles. Las muestras se obtuvieron durante la enfermedad activa y previo al tratamiento. Se utilizaron preparados comerciales de ELISA para *CC16* (DiaMed Eurogen, Hertoginstraat, Belgium) para la determinación de los niveles plasmáticos. Cada muestra se midió por duplicado.

Análisis Estadístico: El análisis estadístico de los resultados se hizo con el paquete estadístico de computadora Stata versión 8. Las diferencias de frecuencias de los alelos y genotipos entre los casos de tuberculosis y el grupo control con la prueba exacta de Fisher utilizando tablas de contingencia 2x2 (58). El valor de *p* se corrigió por el método de Bonferroni, multiplicando el valor de *p* por el número de comparaciones. Para determinar el equilibrio de Hardy-Weinberg en ambos grupos de estudio se utilizó la ecuación binomial y prueba de chi-cuadrada (59). Nosotros podemos asumir por lo tanto que el tamaño de la muestra fue efectivamente infinito y pareado al azar y no existen errores de muestreo al azar y frecuencias génicas impredecibles por un tamaño de muestra insuficiente.

RESULTADOS

La muestra incluyó un grupo de 108 sujetos con tuberculosis pulmonar cuidadosamente caracterizados y 111 controles, ambos grupos mestizos mexicanos identificados en el INER. La edad de los casos y los controles fue de entre 18 y 50 años, pareados por género. Todos los individuos tuvieron el mismo riesgo de exposición a tuberculosis, nivel socioeconómico y grupo étnico, lo único que los hizo diferentes fue la tuberculosis activa.

El promedio de induración al PPD en los controles fue de 16 ± 5 mm, en los pacientes que fueron reactivos (74%) fue muy semejante: 16 ± 4 mm; el 26% de los mismos no presentaron reactividad al PPD. El índice de masa corporal en los casos y los controles no demostró una diferencia estadísticamente significativa. Los resultados en relación a la vacunación BCG en los casos y los controles son los siguientes: informaron haber tenido dicha vacuna y se corroboró con la cicatriz en el

53% y 82% respectivamente, el 20% y 9.5% respectivamente no tenían el antecedente y el 27% y 8.5% no supieron dar la información. **Tabla 1.**

La distribución observada de genotipos en los controles ($p=0.149$) y en los casos de tuberculosis ($p=0.338$) no es diferente de lo esperado y están en equilibrio de Hardy-Weinberg. Las frecuencias de alelos y genotipos del gen *CC16* en los casos y controles se muestra en la **tabla 2.**

Existe una frecuencia elevada del genotipo *GG CC16* en los casos de los pacientes con tuberculosis comparada con los controles ($pC=0.009$, $OR=2.27$, $IC\ 95\%=1.27-4.07$); mientras que el número de individuos portadores de genotipos *AG* y *AA + AG* se encuentran disminuidos en los casos ($pC\ 0.042$, $OR= 0.51$, $IC\ 95\% 0.28-0.91$) y ($p=0.006$, $OR=0.43$, $IC95\%=0.24-0.78$) respectivamente, comparado con los del grupo control (Ver tabla 1). Además observamos una frecuencia elevada del alelo *G CC16* en los pacientes con tuberculosis comparados con los controles ($p=0.006$, $OR=1.96$, $IC95\%=1.21-3.18$). Los niveles plasmáticos de *CC16* se distribuyeron igual tanto en el grupo de casos como en el grupo control, no se observó disminución de los niveles plasmáticos y asociación con el alelo *A*. **Tabla 3.**

DISCUSIÓN

La carga de la tuberculosis en la población humana a lo largo de la historia ha sido extensa y de gran relevancia, por ello es esperable que haya ejercido presión selectiva sobre los genes y las frecuencias de alelos que influyen en el desenlace de enfermedad. El desarrollo y mantenimiento de la resistencia a un agente infeccioso entre la población, está relacionada directamente con la mortalidad entre los hospederos jóvenes, de esta forma, van quedando vivos solo los que han desarrollado los mecanismos necesarios para resistir la invasión y establecimiento del microorganismo, aumentando gradualmente los resistentes a expensas de los más susceptibles. La resistencia innata de una población puede ser de tres niveles: alta, media o baja. Si es alta, el rasgo o característica es heredada de ambos padres, si es heredada de uno solo es media y si no se hereda de ninguno la resistencia será baja. El incremento en la proporción de sujetos resistentes es específico para el microorganismo en particular y también reversible, para este último caso, si el microorganismo es eliminado por erradicación como el caso de la viruela, o bien, controlado por la inmunización efectiva como en el sarampión o por la utilización masiva

de quimioterapia bactericida, como en el caso de la tuberculosis, la frecuencia de los sujetos resistentes disminuirá paulatinamente generación tras generación. De esta forma se pierde la presión ejercida por la evolución y el o los genes que confieren resistencia a la tuberculosis se va perdiendo paulatinamente **(60)**.

El diseño de este estudio permite distinguir los sujetos que se encuentran en estado de infección tuberculosa latente, de aquellos que son susceptibles a la progresión de la enfermedad. Nuestros resultados demuestran una asociación estadísticamente significativa entre el alelo G y el riesgo de desarrollar enfermedad tuberculosa en mestizos mexicanos. Adicionalmente, un sujeto con infección tuberculosa latente, portador del genotipo GG tiene 2.27 veces más posibilidades de riesgo de progresión a la enfermedad activa que un sujeto portador de los genotipos AG y AG + AA. Para esta asociación, es pertinente hacer la siguiente pregunta: ¿la asociación es verdadera o bien se debe a la presencia de factores confusores no identificados o al azar?. Respecto a la primera posibilidad, la estratificación de grupos étnicos es el factor confusor que con mayor probabilidad produce asociaciones espúreas en un estudio genético, el estudio de un grupo étnico único y el haber utilizado como grupo control sujetos con infección latente como es el caso de nuestro estudio, ayuda a disminuir el riesgo de confusión por las diferencias entre grupos, sin embargo, esto no elimina completamente la posibilidad de confusión, el método ideal para eliminarlo sería realizar un estudio en familias, en donde se comparan las frecuencias de alelos heredados y no heredados de los padres. En contra del azar tenemos la prueba estadística que fue significativa. A favor del azar está la falta de diferencias en los niveles plasmáticos de *CCI6* en los grupos de estudio, sin embargo, este aspecto deberá reconsiderarse debido a que el número de sujetos en los que se determinaron dichos niveles, quizá no fue suficiente.

El significado fisiológico de la asociación entre variantes genéticas y enfermedad, se basa en que la generación de una molécula modificada por la variante genética, resulta en la emergencia de un nuevo fenotipo **(61)**. ¿Cómo altera esta variación genética la concentración y/o la actividad y finalmente de que manera contribuye para el desarrollo de susceptibilidad a la tuberculosis activa? Experimentos desarrollados en la rata, en la misma región donde se describe el polimorfismo de *CC16* (región I promotora) indican que otros factores adicionales interactúan para determinar la expresión del gen en el epitelio bronquiolar. En el sujeto con tuberculosis el significado de este polimorfismo aún está por aclararse, es muy posible que afecte la expresión de los niveles de la proteína **(44)**. En este contexto,

la relevancia funcional del alelo A de *CC16* ha sido recientemente estudiada en niños asmáticos, en donde se demuestra que la variante (alelo A) de *CC16* se asocia con niveles plasmáticos disminuidos **(53)**. Tomando en consideración el hecho anterior y la capacidad de *CC16* para inhibir la producción y la actividad biológica de IFN γ , probamos si el alelo A de *CC16* tiene un efecto directo sobre los niveles plasmáticos de *CC16* durante la tuberculosis pulmonar activa. Independientemente de los genotipos de *CC16* en todos los sujetos, tanto en los casos de tuberculosis como en los del grupos control, no demostramos ninguna asociación entre los niveles plasmáticos de *CC16* y polimorfismos del gen *CC16*. En este sentido, nuestros resultados son opuestos a los informado en asma previamente. Esta discrepancia se puede explicar de la siguiente manera: existe la posibilidad de que variantes genéticas desconocidas hasta el momento, interactúen con el alelo A *CC16* para inducir la disminución de la producción de la proteína en sujetos asmáticos, y no así en nuestro grupo control. Por otra parte y de mayor relevancia, es que nuestros resultados pueden explicarse por la presencia de desequilibrio de ligamiento de *CC16* con un gen cercano en el cromosoma 11q13. Interesantemente el gen *FceR1B* (receptor de alta afinidad para la porción Fc de la inmunoglobulina E) se localiza muy próximo al gen *CC16* **(62)** y la presencia de una variante promotora de *FceR1B* (-109 T) se ha asociado con un incremento en los niveles plasmáticos de IgE, éste último es un marcador de respuesta inmune tipo Th2 **(63)**. Más aún, se ha informado de una correlación inversa entre niveles plasmáticos de IgE y respuesta a antígenos de *Mtb*, determinado esto por la reactividad a la prueba tuberculínica PPD, que a su vez denota una reacción de hipersensibilidad retardada **(64)**. También se ha reportado que en los pacientes con tuberculosis activa los niveles de RNAm de IL-4 e IL-13 (ambas citocinas tipo Th2) están en correlación directa con niveles plasmáticos de IgE y extensión de la enfermedad **(65)**. La relación entre el gen de *FceR1B* y los niveles plasmáticos de IgE sugieren que *FceR1B* puede ser el gen vecino en desequilibrio de ligamiento con *CC16*, involucrado en la tuberculosis latente. Finalmente, hay que demostrar la consistencia de la asociación para este mismo gen en otros grupos étnicos, y como se mencionó anteriormente faltan los estudios en familias, pues la forma más sólida de establecer evidencia de asociación entre un marcador genético y un fenotipo complejo es el análisis de ligamiento, este provee el nivel más alto posible de prueba estadística **(66-68)**.

CONCLUSIONES

Con este estudio hemos demostrado por primera vez en la tuberculosis una asociación genética significativa entre el gen CC16 y la susceptibilidad a desarrollar tuberculosis activa en un grupo mexicano bien caracterizado de casos de tuberculosis y controles con infección latente. Adicionalmente nuestros estudios sugieren que un gen localizado en la proximidad al gen CC16 podría estar involucrado en la persistencia de la latencia de la infección tuberculosa.

La información aquí contenida, complementará estudios epidemiológicos de población para cuantificar y confirmar el impacto de los genes en estudio, sobre el riesgo de enfermedad en una población determinada y, establecer de alguna manera, la forma de modificar cualquier factor de riesgo que pueda interactuar con alelos de alto riesgo. Este tipo de estudios ayudan al profesional en salud pública y al médico a realizar intervenciones dirigidas.

PERSPECTIVAS

Realizar estudios de polimorfismos de CC16 en familias, así mismo es deseable desarrollar otros estudios de asociación para este mismo gen en diferentes grupos étnicos.

Adicionalmente, se sabe que la vía IL12-IFN γ es crucial para el desarrollo de una respuesta inmune protectora en tuberculosis, por lo que deseamos continuar con el estudio de polimorfismos de genes relacionados a esta vía y su asociación con la resistencia o susceptibilidad a la tuberculosis. Podemos inferir que polimorfismos de los genes que modulan la producción y actividad biológica de la IL-12 pueden jugar un papel preponderante en el control de la progresión a tuberculosis activa, por lo que hemos seleccionado genes de la región distal promotora del gen MCP-1, que incluye un grupo de genes de la respuesta inmune innata y, junto con TLR-2 modulan la producción de IL-12 y están implicados en el desarrollo de una respuesta inmune efectiva a la infección por *Mycobacterium tuberculosis*.

Además de los estudios de asociación, se pretende realizar estudios de ligamiento para dichos genes incluyendo a CC16.

REFERENCIAS

- 1.- World Health Organization (Ed.) Global Tuberculosis Control, Communicable Diseases, Geneva, Switzerland, 1999.
- 2.- World Health Organization (Ed.) What is DOTS?, A guide to understand the WHO-recommended TB control strategy known as DOTS, Geneva, Switzerland, 1999.
- 3.- Kochi A. The global tuberculosis situation and the new control strategy of the World Health Organization. *Tubercule* 1991;72:1-6.
- 4.- Raviglione MC, Snider DE Jr y Kochi A. Global epidemiology of tuberculosis, morbidity and mortality of a worldwide epidemic. *JAMA* 1995;273:220-226
- 5.- Khoury MJ. Genetic epidemiology and future of disease prevention and public health. *Epidemiologic Reviews*, 1997; 19:175-180
- 6.- Friedman Lloyd N. Tuberculosis. Current concepts and treatment. CRC Press. 1994, 286-301.
- 7.- Chávez FR, Báez R, Montaña L, Lascurain R, Gorocica P, Zenteno E. Respuesta inmune en la tuberculosis. *Rev. Inst Nal de Enf Resp* 1997;10(3):195-202.
- 8.- Novartis Foundation, Sports Science Institute, Cape Twon, South Africa: Genetics and Tuberculosis, John Willey & Sons, New York, 1998.
- 9.- Hill AV. The immunogenetic of infectious diseases. *Annu Rev Immunol* 1998; 16: 593-617.
- 10.- Comstock GW. Tuberculosis in twins: a re-analysis of the prophit survey. *Am Rev Respir Dis* 1978;117:621-624.
- 11.- Stead WW, Senner JW, Reddick WT, Lofgren JP. Racial differences in susceptibility to infection by *Mycobacterium tuberculosis*. *N Engl J Med* 1990; 322:422-427.
- 12.- Khomenko AG, Litvinov VI, Chukanova VP, Pospelov E. Tuberculosis in patients with various HLA phenotypes. *Tubercule* 1990;71:187-192
- 13.- Rajalingam R, Mehra NK, Jain RC, Myneedu VP, Pande JN. Polymerase chain reaction-based sequence-specific oligonucleotide hybridization analysis of HLA Class II antigens in pulmonary tuberculosis: Relevance to chemotherapy and disease severity. *J. Infect. Dis* 1996;173:669-76
- 14.- Brahmajoth V, Pitchappan RM, Kakkanaiah VN, Sashidhar M, Rajaram K, Ramu S, Palanimurugan K, Paramasivan CN y Prabhakar R. Association of pulmonary tuberculosis and HLA in South India. *Tubercule* 1991;72:123-132
- 15.- Goldfeld AE, Delgado JC, Thim S, Bozon MV, Uglialoro AM, Turbay D, Cohen C, Yunis E. Association of an HLA-DQ Allele with clinical tuberculosis. *JAMA* 1998;279:226-228
- 16.- Terán ED, Terán OL, Camarena OA, González AG, Vaca MM, Grandos AJ y Selman M. Human leukocyte antigen-associated susceptibility to pulmonary tuberculosis. Molecular analysis of Class II

alleles by DNA amplification and oligonucleotide hybridization in mexican patients. *Chest* 1999;115:428-433

17.- Sanjeevi CB, Narayanan PR, Prabakar R, Charles N, Thomas BE, Balasubramaniam R y Olerup O. No association or linkage with HLA-DR or DQ genes in South Indians with pulmonary tuberculosis. *Tubercule and Lung Disease* 1992;73:280-284

18.- Newport MJ, Huxley CM, Huston S, Hawryłowicz CM, Oostra BA, Williamson R y Levin M. A mutation in the interferon-gama receptor gene and susceptibility to mycobacterial infection. *N Engl J Med* 1996;335:1941-1949

19.- Jouanguy E, Altare F, Lamhamedi S, Revy P, Emile JF, Newport M, Levin M, Blanche S, Seboun E, Fischer A y Casanova JL. Interferon Gamma Receptor Deficiency in an Infant with fatal Bacille Calmette-Guérin Infection. *N Engl J Med* 1996; 335:1956-1961

20.- Shaw MA, Collins A, Peacock CS, Miller EN, Black GF, Lainson ZL, Shaw JJ, Ramos F, Silveira F, Blackwell JM. Evidence that genetic susceptibility to *Mycobacterium tuberculosis* in a Brazilian population is under oligogenic control: linkage study of the candidate genes NRAMP1 and TNFA. *Tubercule and Lung Disease* 1997;78:35-45

21.- Bellamy R, Ruwende C, Corrah T, McAdam K y Whittle H, Hill A. Variations in the NRAMP1 gene and susceptibility to tuberculosis in west africans. *N Engl J Med* 1998: 338(10);640-644

22.- Mizrahi V. Genetics and tuberculosis, Cape Town, South Africa, 21 November 1997, Meeting report. *Tubercule and Lung Disease* 1997; 78:171-174

23.- Blackwell JM. Genetics of host resistance and susceptibility to intramacrophage pathogens: a study of multiplecase families of tuberculosis, leprosy and leishmaniasis in north-eastern Brazil. *Int. J. Parasitol* 1998; 28: 21-28.

24.- Bellamy R, Ruwende C, Corrah T, McAdam KP, Whittle HC, Hill AV. Assessment of the interleukin 1 gene cluster and other candidate gene polymorphism in host susceptibility to tuberculosis. *Tuber. Lung Dis* 1998; 79: 83-89.

25.- Bellamy R, Ruwende C, Corrah T, McAdam KP, Thursz M, Whittle HC, Hill AV. Tuberculosis and chronic hepatitis B virus infection in Africans and variation in vitamin D receptor gene. *J. Infec. Dis* 1999; 179: 721-724.

26.- Wilkinson RJ, Patel P, Llewelyn M, Hirsch CS, Pasvol G, Snounou G, Davidson RN, Toossi Z. Influence of polymorphism in the genes for interleukin (IL)-1 receptor antagonist and IL-1beta on tuberculosis. *J. Exp. Med* 1999; 189: 1863-1874.

27.- Bloom B, Cole S, Duncan K, Enarson D, Fine P, Ginsberg A, La Montagne J, Smith P, Young D. Tuberculosis: old lessons unlearnt? *Lancet* 1997; 350: 149 (letter).

28.- Bloom BR, Small PM. The evolving relation between humans and *Mycobacterium tuberculosis*. *N. Engl. J. Med.* 1998; 338: 667-678 (letter).

- 29.- Schwenk A, Macallan DC. Tuberculosis, malnutrition and wasting. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care* 2000; 3: 285-291.
- 30.- Bellamy R. Susceptibility to mycobacterial infections: the importance of host genetics. *Genes and Immunity* 2003; 4:4-11
- 31.- Stenger S, Modlin RL. T cell mediated immunity to *Mycobacterium tuberculosis*. *Curr. Opin. Microbiol* 1999; 2: 89-93.
- 32.- O'Brien L, Roberts B, Andrew PW. Activation of anti-mycobacterial activity of macrophages and mechanisms of anti-mycobacterial activity. *Curr. Top.Microbiol. Immunol* 1995; 215: 97-130.
- 33.- De Jong R. Severe mycobacterial and salmonella infections in interleukin-12 receptor-deficient patients. *Science*. 1998; 280:1435-1439
- 34.- Altare F. Impairment of mycobacterial immunity in human interleukin-12 receptor deficiency. *Science* 1998; 280:1432-1438
- 35.- López-Maderuelo D, Arnalich F, Serantes R, González A, Codoceo R, Madero R, Vázquez JJ, Montiel C. Interferon-gamma and interleukin-10 gene polymorphisms in pulmonary tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 167:970-975
- 36.- Bellamy R. Interferon-gamma and host susceptibility to tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 167:946-947
- 37.- Rook GAW, Bloom BR, in *Tuberculosis, pathogenesis, protection and control*, Barry R. Bloom, Ed. (American Society for Microbiology Press, Washington, DC, 1994) pp.485-501
- 38.- Schluger NW, Rom WN. The host immune response to tuberculosis. *Am. J. Respir Crit. Care Med* 1998;157:679
- 39.- Ellner JJ. Review: the immune response in human tuberculosis-implications for tuberculosis control. *J. Infect. Dis.* 1997;176:1351
- 40.- Flynn JL, Chan J. Immunology of tuberculosis. *Annu. Rev. Immunol.* 2001;19:93
- 41.- Goerdts S, Orfanos CE. Other functions, other genes: alternative activation of antigen-presenting cells. *Immunity* 1999; 10:137-142.
- 42.- van Crevel R, Ottenhoff THM, van der Meer WM. Innate immunity to *Mycobacterium tuberculosis*. *Clinical Microbiol Reviews.* 2002; 15:294-309
- 43.- Dierynck I, Bernard A, Roels H, De Ley M. Potent inhibition of both human interferon-gamma production and biologic activity by Clara cell protein CC16. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 1995; 12: 205-210.
- 44.- Laing IA, Goldblatt J, Eber E, Hayden CM, Rye PJ, Gibson NA, Palmer LJ, Burton PR, Le Souef PN. A polymorphism of the CC16 gene is associated with increased risk of asthma. *J. Med. Genet* 1998; 35: 463-467.

- 45.- Mao XQ, Shirakawa T, Kawai M, Enomoto T, Sasaki S, Dake Y, Kitano H, Hagihara A, Hopkin JM, Morimoto K. Association between asthma and an intragenic variant of CC16 on chromosome 11q13. *Clin. Genet.* 1998; 53: 54-56.
- 46.- Broeckaert F, Clippe A, Knoop B, Hermans C, Bernard A. Clara cell secretory protein (CC16): features as a peripheral lung biomarker. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2000: 923: 68-77.
- 47.- Lesur O, Bernard A, Arsalane K Clara cell protein (CC16) induces a phospholipase A-2-mediated inhibition of fibroblast migration in vitro. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 152:290-297.
- 48.- Jouanguy E, Lamhamedi-Cherradi S, Lammas D, Dorman SE, Fondaneche MC, Dupuis S, Doffinger R, Altare F, Girdlestone J, Emile JF, Ducoulombier H, Edgar D, Clarke J, Oxelius VA, Brai M, Novelli V, Heyne K, Fischer A, Holland SM, Kumararatne DS, Schreiber RD, Casanova JL. A human IFNGR1 small deletion hotspot associated with dominant susceptibility to mycobacterial infection. *Nat. Genet* 1999; 4: 370-378 (1999).
- 49.- Sieling PA, Modlin RL. Cytokine pattern at the site of mycobacterial infection. *Immunobiology* 1994; 191: 378-387.
- 50.- Bonecini-Almeida MG, Chitale S, Boutsikakis I, Geng J, Doo H, He S, Ho JL. Induction of in vitro human macrophage anti-Mycobacterium tuberculosis activity: requirement for IFN-gamma and primed lymphocytes. 1998; *J. Immunol* 160: 4490-4499.
- 51.- Cooper AM, Dalton DK, Stewart TA, Griffin JP, Russell DG, Orme IM. Disseminated tuberculosis in interferon gamma gene-disrupted mice. *J. Exp. Med* 1993;178: 2243-2247.
- 52.- Schork NJ, Fallin D, Lanchbury JS. Single nucleotide and the future of genetic epidemiology. *Clin. Genet.* 2000; 58: 250-264.
- 53.- Laing IA, Hermans C, Bernard A, Burton PR, Goldblatt J, Le Souef PN. Association between plasma CC16 levels, A38G polymorphism, and asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2000; 16: 124-127.
- 54.- Burgos-Vargas R, Granados J. Ankylosing Spondylitis and related diseases in Mexican Mestizo. In: Khan MA, ed. *State of the Art Reviews*. Hanley and Belfus, Inc., Philadelphia, New York, 1990 pp. 237-268
- 55.- American Thoracic Society. The tuberculin skin test. *Am Rev Respir Dis* 1981; 124:356-363
- 56.- American Thoracic Society, Centres for Disease Control and Prevention. Targeted tuberculin testing and treatment of latent tuberculosis infection. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161:s221-s247
- 57.- Hay JG, Danel C, Chu CS, Crystal RG. Human CC10 gene expression in airway epithelium and subchromosomal locus suggest linkage to airway disease. *Am J Physiol* 1995; 268:L565-575.
- 58.- Mehta CR, Patel NR. A network algorithm for performing Fisher's exact test in rXc contingency tables. *J. Am. Statistical Assoc.* 1983; 78: 427-430.
- 59.- Lynch M, Walsh B. *Genetics and Analysis of Quantitative Traits*. Sinauer Associates Inc. Publishers: Sunderland, Massachusetts, 1997, pp 54-56.
- 60.- Stead W.W. Genetics and Resistance to Tuberculosis. *Ann Intern Med* 1992; 116:937-941

- 61.- Schork NJ, Fallin D, Lanchbury JS. Single nucleotide and the future of genetic epidemiology. *Clin. Genet.* 2000; 58: 250-264.
- 62.- Adra CN, Mao XQ, Kawada H, Gao PS, Korzycka B, Donate JL, Shaldon SR, Coull P, Dubowitz M, Enomoto T, Ozawa A, Syed SA, Horiuchi T, Khaeraja R, Khan R, Lin SR, Flinter F, Beales P, Hagihara A, Inoko H, Shirakawa T, Hopkin JM. Chromosome 11q13 and atopic asthma. *Clin. Genet.* 1999; 55:431-437.
- 63.- Hizawa N, Yamaguchi E, Jinushi E, Kawakami Y. A common FCER1B gene promoter polymorphism influences total serum IgE levels in a Japanese population, *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2000; 161:906-909.
- 64.- Shirakawa T, Enomoto T, Shimazu S, Hopkin JM. The inverse association between tuberculin responses and atopic disorder. *Science* 1997; 275:77-79.
- 65.- Seah GT, Scott GM, Rook GA. Type 2 cytokine gene activation and its relationship to extend of disease in patients with tuberculosis. *J. Infect. Dis* 2000; 181:385-389.
- 66.- Beaty TH, Khoury MJ. Interface of Genetics and Epidemiology. *Epidemiologic Reviews* 2000; 22:120-125
- 67.- Rybicki BA. Genetic epidemiological approaches to the study of lung disease. *Sem in Resp Crit Care Med* 2003; 24:137-149
- 68.- Maliarik MJ, Iannuzzi MC. Host genetic factors in resistance and susceptibility to tuberculosis infection and disease. *Sem in Resp Crit Care Med* 2003; 24:223-228

HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

1.- Nombre _____

2.- Dirección _____

3.- Teléfono _____

4.- Paciente _____ Control _____

5.- Número de expediente _____ Código _____

6.- Edad _____ 7.- Sexo _____

8.- Lugar de nacimiento _____

9.- Lugar y tiempo de residencia _____

10.- Edad de inicio de la enfermedad o contacto _____

11.- Tabaquismo actual si () no ()

Si la respuesta es **si** indique lo siguiente:

11.1 Años de fumar _____

11.2 Cuantos cigarros fuma al día en promedio _____

12.- Alcoholismo _____

13.- Exploración _____

14.- Talla _____ Peso _____ IMC _____

15.-Radiografía _____

16.- Baciloscopia _____

17.- Cultivo M. tuberculosis _____

18.- TBP clase _____ Categoría _____

19.- BCG (edad de aplicación) _____ Cicatriz _____

20.- PPD _____ Booster _____

21.- Leucocitos totales _____ Neutrófilos _____ % Monocitos _____ %

linfocitos _____ % Hb _____ Htc _____

22.- Proteínas totales _____

albúmina sérica _____ globulinas _____

23.- ELISA VIH _____ Fecha _____

24.- Factores de riesgo infección VIH _____

25.- Fecha de inicio del tratamiento _____

26.- Fármacos _____

27.- Fecha de terminación _____

28.- Síntomas:

Fiebre si () no () Tos si () no () Expectoración si () no ()

Hemoptisis si () no () Pérdida de peso _____ Kg

Disnea sí () no () + ++ +++

Tabla 1

Edad, Reactividad a la tuberculina (PPD), Índice de masa corporal (IMC) y vacunación BCG de los casos y controles.

	Casos n=108	Controles n=111
Edad	28±8* años	29±10* años
PPD	Reactores 80(74%)** 16±4* mm No reactores 28(26%)**	16±5* mm
IMC	20±5*	24±4*
Vacunación BCG	Si= 57(53%)** No= 22(20%)** No sabe= 29(27%)**	Si= 91(82%)** No= 10(9.5%)** No sabe= 9(8.5%)**

* Promedio y desviación estándar

** n (%)

Tabla 2. Frecuencias de genotipos y alelos del gen *CC16* en los casos de tuberculosis y los controles.

Genotipos	Casos de Tuberculosis Pulmonar activa (N = 108)		Controles con Infección Tuberculosa Latente (N = 111)		<i>p</i> C	OR	CI 95%
	n	F	n	F			
GG	72	0.667	52	0.468	0.009	2.27	1.27-4.07
AG	35	0.324	54	0.486	0.042	0.51	0.28-0.91
AA	1	0.009	5	0.045	NS		
AA + AG	36	0.333	59	0.531	0.006	0.43	0.24-0.78

Alelos	Casos de Tuberculosis Pulmonar activa (N = 216)		Controles con Infección Tuberculosa Latente (N = 222)		<i>p</i>	OR	CI 95%
	n	F	n	F			
G	179	0.829	158	0.712	0.006	1.96	1.21-3.18
A	37	0.171	64	0.288	0.006	0.51	0.31-0.83

Para calcular la frecuencia de alelos A y G (*CC16*) se utilizó la siguiente fórmula: $p(A)=f_{AA} + 1/2f_{AG}$ Y

$$q(G)=1-p(A)$$

El número total de alelos se calculó multiplicando el número total de individuos por 2.

Tabla 3. Niveles plasmáticos de los genotipos de *CC16* en los casos y controles

Genotipos del gen <i>CC16</i>	Casos de tuberculosis (n=36)		Controles (n=39)	
	(n)	CC16 (ng/ml)	(n)	CC16(ng/ml)
AA	(1)	23.56±1.04	(4)	2.556±1.94
AG	(12)	21.886±2.507	(19)	20.987±3.42
GG	(23)	21.304±2.5	(16)	21.402±2.05

Agradecimientos:

Agradezco al Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias, a la Universidad Nacional Autónoma de México y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, el apoyo brindado para el desarrollo de este proyecto.