



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**Polimorfismos genéticos -174, -572 y -597 de *IL-6* como
biomarcadores de riesgo de padecer EPOC en una muestra
de población mexicana.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGO

P R E S E N T A:

MARITZA OROZCO PANTOJA



**DIRECTOR DE TESIS:
DRA. JULIETA RUBIO LIGHTBOURN
2015**

Ciudad Universitaria, D. F.



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.

Hoja de datos del jurado.

1. Datos del alumno
Orozco
Pantoja
Maritza
62820140
Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Ciencias
Biología
306096570
2. Datos del tutor
Dra.
Julieta
Rubio
Lightbourn
3. Datos del sinodal 1
Dra.
Luisa Alvarina
Alba
Lois
4. Datos del sinodal 2
Dra.
Ollin Celeste
Martínez
Ramírez
5. Datos del sinodal 3
M. en C.
Ana Paulina
Mendoza
Von der Borch
6. Datos del sinodal 4
M. en C.
Clementina
Castro
Hernández
7. Datos del trabajo escrito
Polimorfismos genéticos -174, -572 y -597 de *IL-6* como biomarcadores de riesgo de padecer EPOC en una muestra de población mexicana.
51 pp
2015

El presente trabajo se llevó a cabo en el laboratorio C-242 del Departamento de Medicina Genómica y Toxicología Ambiental del Instituto de Investigaciones Biomédicas (IIB) de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), bajo la dirección de la Dra. Julieta Rubio Lightbourn, la asesoría de la Dra. Ollin Celeste Martínez Ramírez y con el apoyo de PAPIIT a los proyectos con los números IN21011, IN208314 y 178860.

Agradecemos a la Dra. Alejandra Ramírez Venegas y a la Lic. en enfermería Leticia Ochoa Coutiño de la clínica de tabaquismo y EPOC del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias Ismael Cosío Villegas (INER) por las facilidades otorgadas para la realización de este trabajo.

Muchas gracias a todos los individuos donadores de las muestras sanguíneas que se analizaron en este estudio. Su ayuda ha sido fundamental.

Índice

1.Introducción	8
1.1 EPOC	8
1.2. Incidencia y mortalidad	8
1.3. Manifestaciones clínicas de la EPOC.....	9
1.3.1. Estadios de la EPOC	10
1.4. Factores de riesgo para desarrollar EPOC.....	11
1.4.1. Tabaquismo	11
1.4.2. Contaminación ambiental y exposición ocupacional	12
1.4.3. Infecciones adenovirales	12
1.4.4. Factores genéticos	13
1.5. Inflamación en la EPOC.....	15
1.5.1. Citocinas como mediadores de la inflamación en la EPOC.....	16
1.5.2. Interleucina-6	17
1.5.3. Polimorfismos genéticos de IL-6.....	18
2. Justificación.....	19
3. Hipótesis.....	19
4. Objetivo general	20
5. Materiales y métodos.....	20
6. Resultados	24
7. Discusión.....	40
8. Conclusión	44
9. Literatura consultada.....	45

Índice de tablas

- Tabla 1. Clasificación de la gravedad de la limitación del flujo aéreo en la EPOC.
- Tabla 2. Frecuencias de polimorfismos de IL-6 analizados en diferentes poblaciones.
- Tabla 3. Frecuencias alélicas de los polimorfismos -174 G/C, -572 G/C y -597 G/A de IL-6 en trabajos realizados con población mexicana. Estimado de muestra necesarias para el estudio de casos y controles.
- Tabla 4. Criterios considerados en la colecta de las muestras para el estudio de casos y controles.
- Tabla 5. Total de muestras incluidas en el estudio.
- Tabla 6. Oligonucleótidos, tamaño de amplicón, enzimas de restricción y condiciones empleadas en la genotipificación de los polimorfismos.
- Tabla 7. Determinación del desequilibrio de ligamiento entre los polimorfismos -174 G/C, -572 G/C y -597 G/A de IL-6.
- Tabla 8. Características de la población total de casos (individuos diagnosticados con EPOC).
- Tabla 9. Características de la población de estudio, casos (pacientes con EPOC) y grupo control, pareados por sexo y edad.
- Tabla 10. Asociación entre factores de riesgo (exposición a humo de leña y tabaquismo) y el sexo.
- Tabla 11. Frecuencias de los polimorfismos -174 G/C, -572 G/C y -597 G/A de IL-6 de la muestra total de pacientes con EPOC.
- Tabla 12. Frecuencias (alélicas y genotípicas) de los polimorfismos (-174,-572 y -597) de IL-6 en las muestras pareadas por sexo y edad (casos y controles).
- Tabla 13. Asociación de los polimorfismos -174,-572 y -597 de IL-6 con el riesgo de padecer EPOC en una muestra de población mexicana.
- Tabla 14. Asociación de los polimorfismos con el riesgo de padecer EPOC de acuerdo al índice tabáquico.
- Tabla 15. Asociación de los polimorfismos con el riesgo de padecer EPOC de acuerdo a la exposición a humo de leña.
- Tabla 16. Asociación de los polimorfismos con el riesgo de padecer EPOC de acuerdo al sexo.
- Tabla 17. Asociación de los polimorfismos con el riesgo de padecer EPOC de acuerdo a la edad.
- Tabla 18. Asociaciones significativas en el estudio. Modelo codominante.
- Tabla 19. Asociaciones significativas en el estudio. Modelo dominante.

Índice de figuras

Figura 1. Mortalidad por EPOC a nivel mundial (hombres y mujeres).

Figura 2. Diagrama que representa los sitios polimórficos en la región promotora del gen IL-6 que han sido analizados en estudios epidemiológicos.

Figura 3. Fórmula para determinar el número mínimo de muestras requerido para un estudio de casos y controles.

Resumen

La enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) es uno de los padecimientos pulmonares con mayor incidencia y mortalidad a nivel mundial incluyendo nuestro país. El desarrollo de esta enfermedad está determinado por diferentes factores de riesgo entre los que se encuentran el tabaquismo, la contaminación ambiental, la exposición a humo de leña, y los factores genéticos. Una de las características más importantes de la EPOC es el proceso inflamatorio exacerbado que provoca la disminución de la capacidad pulmonar, por lo que el análisis de los genes de los mediadores de la inflamación puede ayudar a discernir si existe algún factor genético que sea determinante para el desarrollo de este padecimiento.

En este estudio se analizaron los polimorfismos -174 G/C, -572 G/C y -597 T/A de interleucina 6 (IL-6) que es una de las citocinas con mayor actividad en el tejido pulmonar y se ha encontrado que estas variantes polimórficas tienen mayor frecuencia en pacientes de enfermedades inflamatorias. Se realizó un estudio epidemiológico de casos y controles, usando 75 muestras de pacientes diagnosticados con EPOC y 75 muestras de individuos sin diagnóstico de esta enfermedad. Se encontró una asociación negativa de los polimorfismos -572 genotipo heterocigoto (GC) (OR=0.3, IC=0.11-0.62, p=0.001) y -597 genotipo homocigoto mutante (AA) (OR=0.07, IC=0.009-0.6, p=0.002) con el riesgo de padecer la EPOC. Esta asociación se mantiene al dividir el grupo de estudio de acuerdo al tabaquismo (asociación de no riesgo en fumadores), exposición a humo de leña (asociación de no riesgo en no expuestos), sexo, (asociación de no riesgo en sexo masculino) y edad (asociación de no riesgo en grupo de 65-74 años de edad).

Es importante señalar que los resultados obtenidos en este estudio deben ser confirmados con un tamaño de muestra mayor, así como también se recomienda la inclusión de otros genes de mediadores inflamatorios para determinar si las asociaciones encontradas se mantienen y los polimorfismos de estos componentes de la inflamación pueden ser utilizados como biomarcadores para la EPOC.

1.Introducción

1.1 EPOC

La enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) es un padecimiento irreversible causado por múltiples factores, se caracteriza por la obstrucción de las vías respiratorias que impide el flujo aéreo (Celli, 2004). Existen estudios que proporcionan evidencia de que la EPOC está determinada por una respuesta inflamatoria no regulada o anormal en las células pulmonares hacia agentes nocivos, principalmente al humo de cigarro (GOLD, 2008; Yanvaeba, 2009; Provinciali, 2011). En esta enfermedad se presenta una combinación compleja de signos y síntomas, se distingue a la bronquitis crónica y el enfisema pulmonar como enfermedades crónicas que forman parte de la EPOC (INER, 2010; Mehrotra, 2010). Además del efecto directo en los pulmones, este padecimiento también tiene consecuencias significativas a nivel sistémico (GOLD, 2008; Giraldo, 2008).

1.2. Incidencia y mortalidad

Desde el año 1960 la mortalidad asociada con la EPOC ha incrementado (Tovar, 2004). Murray y colaboradores indican que en el año 1990 la EPOC fue la sexta causa de muerte a nivel mundial y según la Organización Mundial de la salud (OMS) en el año 2005 cerca de tres millones de personas fallecieron a causa de este padecimiento, número que equivale al 5% de las defunciones registradas en ese año; en el año 2007 aproximadamente 210 millones de personas padecían esta enfermedad en todo el mundo, entre los cuales 80 millones se encontraron en la clasificación de grave o moderado (Borja, 2010; OMS, 2012). Desde el año 2000, la EPOC representa la cuarta causa de muerte a nivel mundial únicamente después de las enfermedades coronarias, cerebrovasculares y neoplasias (Cano, 2006). Se estima que para el año 2030 llegará al tercer puesto y será la causa del 10% de la mortalidad mundial (OMS, 2012).

En el contexto nacional, esta enfermedad se ubica entre la cuarta y la sexta causa de muerte para hombres y mujeres. En el año 2004, el número de defunciones atribuibles al tabaquismo fue de 60, 000, de las cuales el 29% se asocian a EPOC (INEGI, 2012). Según la OMS, en nuestro país la tasa de mortalidad por la EPOC es de 27.8 por cada 100,000 individuos (OMS, 2005)(Fig. 1). Se estima que en el año 2020 será la segunda causa de muerte a nivel nacional (INER, 2010). En el proyecto PLATINO (Proyecto Latinoamericano de Investigación en Obstrucción Pulmonar) se estimó la prevalencia de esta enfermedad en cinco ciudades de Latinoamérica, encontrando que

en la zona metropolitana de la Ciudad de México el 7.8% de la población la padece, ubicándose en el quinto lugar de mortalidad (Menezes, 2006).

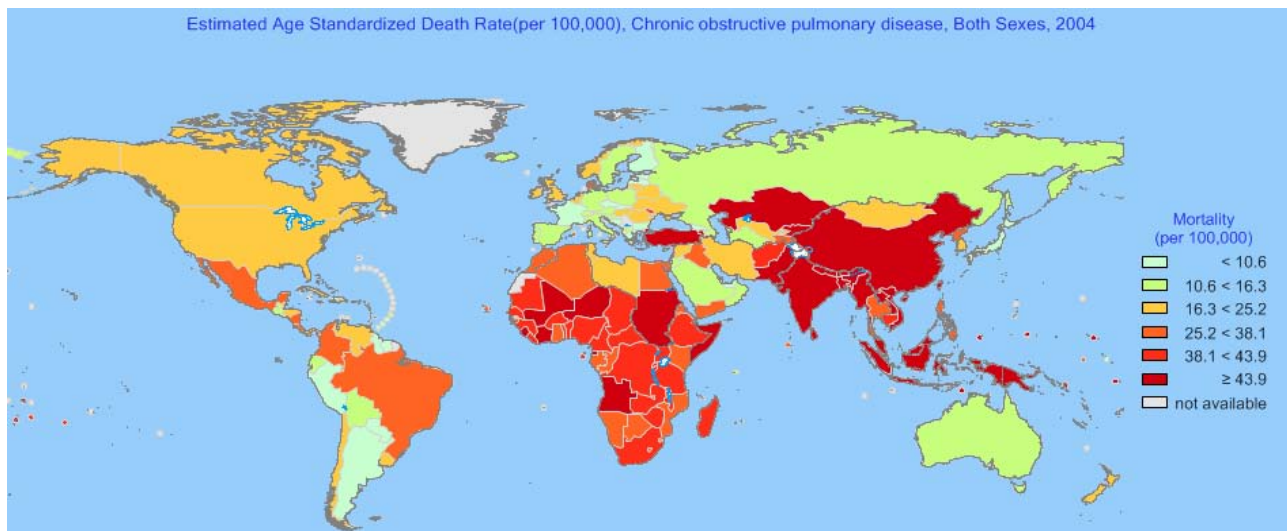


Figura 1.- Mortalidad por EPOC a nivel mundial (hombres y mujeres), (OMS, 2004). En México, la tasa estimada es de 27.8 por cada 100 000 individuos.

1.3. Manifestaciones clínicas de la EPOC

Los síntomas de la EPOC incluyen disnea, tos y expectoración. Los procesos de bronquiolitis, fibrosis, obstrucción de vías aéreas pequeñas, enfisema, destrucción del parénquima pulmonar y pérdida de la elasticidad pulmonar también forman parte del diagnóstico de este padecimiento (Torres, 2011; Reséndiz, 2011).

La EPOC se define por la combinación de efectos de los procesos de inflamación, oxidación, destrucción proteolítica y genómica. Diversos tipos celulares y mediadores son los que interactúan y pueden desencadenar procesos de destrucción y reparación del tejido pulmonar; lo que se refleja en una limitación progresiva del flujo aéreo. Dicha limitación puede ser resultado de tres diferentes mecanismos patológicos (Barnes, 2009):

- a) Engrosamiento y fibrosis de las vías aéreas pequeñas (bronquitis obstructiva crónica) que puede ser producto de la inflamación crónica.
- b) Enfisema, resultado del colapso de las vías espiratorias, debido a la alteración de los compartimentos alveolares que permiten cerrar la espiración y a la falta de retracción elástica pulmonar.
- c) Obstrucción luminal con moco y exudado plasmático como resultado de la inflamación.

Luego de la obstrucción causada por la acumulación de mucosa hay una secreción de proteínas plasmáticas en la superficie de las vías aéreas, las cuales pueden polimerizarse para formar la matriz inicial de reparación. Los mecanismos de reparación de las vías aéreas tienen la capacidad de producir tejido nuevo y funcional, o en caso contrario, conducir a la producción de tejido dañado con fibrosis que produce la obstrucción irreversible de las vías aéreas (Giraldo, 2008).

1.3.1. Estadios de la EPOC

De acuerdo con la Iniciativa Global para la Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica (GOLD por sus siglas en inglés), para obtener el diagnóstico clínico de la EPOC es necesario realizar una espirometría. La presencia de un cociente FEV1/FVC (volumen espirado máximo en el primer segundo de la espiración forzada/ capacidad vital forzada) postbroncodilatador menor a 0.7 confirma la existencia de una limitación crónica del flujo aéreo, característico de este padecimiento.

Esta organización propone la clasificación de las etapas de esta enfermedad por medio del análisis espirométrico, debido a que con la información obtenida se puede determinar el grado de obstrucción o limitación del flujo aéreo.

Tabla 1.- Clasificación de la gravedad de la limitación del flujo aéreo en la EPOC, en pacientes con un cociente FEV1/FVC postbroncodilatador <0.7. (GOLD, 2013). FEV1: Volumen máximo espirado en el primer segundo, FVC: capacidad vital forzada.

Estadio	Diagnóstico	Espirometría
GOLD I	Leve	FEV1/FVC menor a 0.7 FEV1 mayor al 80% del valor de referencia
GOLD II	Moderado	FEV1/FVC menor a 0.7 FEV1 entre el 50 y el 80% del valor de referencia
GOLD III	Grave	FEV1/FVC menor a 0.7 FEV1 entre el 30 y el 50% del valor de referencia
GOLD IV	Severo/Muy grave	FEV1/FVC menor a 0.7 FEV1 menor al 30% del valor de referencia, o menor al 50% del valor de referencia más insuficiencia respiratoria.

1.4. Factores de riesgo para desarrollar EPOC

Los factores de riesgo ambientales tienen un papel importante en el desarrollo de la EPOC. Se considera dentro de este grupo a la contaminación ambiental, la exposición ocupacional a diferentes agentes físicos y químicos, tabaquismo y las diferentes infecciones adenovirales que afectan las vías respiratorias y que se presentan en la población desde temprana edad (Sandford, 2002). Además de lo anterior es importante considerar el componente genético que puede estar involucrado con el riesgo de padecer esta enfermedad, otorgando susceptibilidad a nivel individual.

1.4.1. Tabaquismo

Sin duda el tabaquismo es uno de los factores de riesgo más importantes en el desarrollo de la EPOC (Sanford, 2002). La Sociedad Europea de la Respiración (ERS por sus siglas en inglés) destaca la importancia del humo de tabaco como un factor de riesgo frecuente en esta enfermedad a nivel mundial y afirma el carácter sistémico de esta enfermedad. Más de 1000 millones de personas fuman tabaco en todo el mundo y cerca de 6 millones mueren anualmente por el consumo y la exposición al humo de tabaco. En México aproximadamente el 8% de las mujeres y el 24% de los hombres son fumadores según la Encuesta Global de Tabaquismo en Adultos (GATS) realizada en el año 2009 (Guerrero, 2013; Pichon-Riviere, 2013).

Este hábito tiene una gran contribución en del desarrollo de enfermedades prevenibles, dentro de las que se distingue a la EPOC. Existe evidencia de una relación dosis-dependiente entre la severidad de esta enfermedad y la cantidad de tabaco fumado por año, además de que se ha descrito que las personas fumadoras tienen mayor frecuencia de problemas respiratorios y anormalidades de la función pulmonar comparadas con personas no fumadoras (Lomas, 2001; Hacievliyagil, 2013). Se ha descrito el efecto directo de los agentes carcinogénicos y las sustancias citotóxicas presentes en el tabaco que ingresan al organismo durante su combustión, las cuales se relacionan con el daño al DNA afectando diversos tejidos, lo que puede explicar las alteraciones funcionales y estructurales que produce el tabaquismo crónico en diferentes órganos (Goncalves, 2011).

El tabaquismo es un importante factor de riesgo en el desarrollo de la EPOC debido a que incrementa el número de células del sistema inmunológico. La exposición al humo de tabaco aumenta el flujo de estas células en las vías respiratorias y a su vez reduce su capacidad de respuesta a estímulos, eliminación de patógenos y fagocitosis. Los neutrófilos y macrófagos de fumadores tienen niveles incrementados de enzimas proteolíticas (neutrófilo elastasas y

metaloproteasas) cuya secreción puede ser responsable de la destrucción del tejido pulmonar característico de la EPOC. Además, el estrés oxidante ocasionado por fumar produce elevados niveles de citocinas, que activan a los neutrófilos polimorfonucleares (Kim, 2004; Domagala, 2008, Goncalves, 2011). En los macrófagos también se presenta activación por mediadores proinflamatorios, especies reactivas de oxígeno (ROS) y enzimas proteolíticas, generando un mecanismo celular que relaciona la exposición a humo de cigarro con la inflamación y el daño tisular (Sopori, 2002).

1.4.2. Contaminación ambiental y exposición ocupacional

Existe evidencia de que la exposición ocupacional contribuye al riesgo de padecer la EPOC. Los estudios realizados en las últimas dos décadas demuestran la relación entre los vapores, gases, polvos y humos (VGDF por sus siglas en inglés) y el desarrollo de la enfermedad (Mazitova, 2012). En diferentes estudios se ha descrito la relación que existe entre el decremento de la capacidad pulmonar en la EPOC (medida por espirometría) y la exposición a humos y polvos minerales o biológicos. Además se ha encontrado que esta exposición a polvos y humos también está asociada con un mayor número de exacerbaciones en pacientes. La exposición ocupacional a estos compuestos ocurre con el doble de frecuencia en pacientes con EPOC comparados con personas sanas (Rodríguez, 2014).

Diferentes modelos experimentales han demostrado que la exposición a dióxido de azufre, vanadio, cadmio o endotoxinas pueden inducir obstrucción en las vías aéreas y consecuentemente provocar la EPOC. En mineros, el grado de enfisema pulmonar se correlaciona con el número de años que laboraron y la cantidad de polvo contenido en los pulmones (Leigh, 1994; Rodríguez, 2014). Por otro lado se ha encontrado que en pacientes con EPOC se encuentran mayores niveles de VGDFs, lo cual demuestra el fuerte vínculo entre la exposición a VGDFs en el lugar de trabajo y/o vivienda y el riesgo de desarrollar dicho padecimiento (Mazitova, 2012).

1.4.3. Infecciones adenovirales

Diversos estudios han propuesto que las infecciones virales pueden estar relacionadas con la persistente inflamación en la EPOC. Se ha considerado que las enfermedades respiratorias infantiles son un importante factor de riesgo para la EPOC, ya que los adenovirus que causan bronquitis, neumonía e insuficiencia respiratoria a temprana edad, también generan una

infección latente en las amígdalas, en linfocitos de sangre periférica y en el pulmón. Este fenómeno de latencia es debido a que se integran genes virales en el DNA humano (Kasuga, 2009; Matsumoto, 2013).

Las proteínas adenovirales de regiones tempranas tales como la E1A (*adenovirus early region 1A*) pueden regular la expresión de genes por medio de la interacción con factores de transcripción celular y de esta forma provocar un aumento en la síntesis de mediadores de la inflamación. Se ha visto que pacientes con EPOC tienen una mayor cantidad de DNA adenoviral E1A en tejido pulmonar comparados con controles sin obstrucción en vías respiratorias. También se ha observado que en células del epitelio pulmonar la expresión de este gen viral se incrementa en muestras de pacientes con enfisema pulmonar severo, por lo que se sugiere que este material genético viral integrado al DNA humano puede tener un papel relevante en la patogénesis de la EPOC (Retamales, 2001; Kasuga, 2009).

1.4.4. Factores genéticos

Los factores genéticos contribuyen al desarrollo de diversas enfermedades, entre las cuales se distingue a la EPOC (Postma, 2011). En este padecimiento se observan patrones determinados ya que se presenta de forma agregada en familias, existiendo una fuerte correlación entre padres e hijos o hermanos. Por esta razón se sugiere que los factores genéticos pueden estar relacionados con el desarrollo de esta enfermedad y tener participación en sus mecanismos de patogénesis (Adcock, 2011; Postma, 2011).

En la actualidad se reconoce la importancia de los factores genéticos en la susceptibilidad a enfermedades como una importante área de estudio ya que existen varios genes involucrados con una enfermedad y su expresión puede variar dependiendo de la población o incluso del individuo. Existen genes cuya variación puede brindar predisposición a enfermedades y si su transmisión es autosómica dominante son denominados genes de alta penetrancia, como es el caso del cáncer de mama donde las mutaciones en los genes *BRCA1* y *BRCA2* aumentan considerablemente el riesgo de padecer esta enfermedad (Mitrunen, 2003). Sin embargo también existen genes de baja penetrancia cuya variación tiene un menor impacto en términos de riesgo relativo, pero que de forma conjunta y con la influencia de otros factores de riesgo contribuyen al desarrollo de diversas enfermedades. Dentro de este grupo de variaciones se encuentran los polimorfismos, que son variaciones en un sitio determinado de la secuencia del DNA y proveen variación alélica entre individuos. Es importante mencionar que se considera un polimorfismo

cuando la frecuencia de uno de los alelos en la población es superior al 1% (Checa, 2007, Cooper, 2013). Uno de los tipos de polimorfismos mayormente estudiados son los polimorfismos de un solo nucleótido (SNP por sus siglas en inglés) que son variaciones en una sola base de la secuencia de DNA y que representan cerca del 90% de las variaciones genéticas en el genoma humano (Griffin, 2000).

Por su naturaleza multifactorial, la EPOC es genéticamente compleja. A lo largo del tiempo ha sido posible identificar algunos genes de baja penetrancia que pueden contribuir a su desarrollo, los cuales han sido de gran interés en la búsqueda de un diagnóstico temprano y posibles tratamientos. Un gran número de polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs) en las regiones promotoras y/o regiones codificantes de un amplio rango de genes han sido examinados con el propósito de determinar si existe una asociación genética con la EPOC. Una de las variaciones genéticas más estudiadas en la EPOC es la deficiencia de alfa-1-antitripsina, proteína que tiene como función principal la inhibición de la actividad de la elastasa en el tejido pulmonar y que además tiene un potencial antiinflamatorio. La variación genética del gen SERPINA1 que codifica para esta proteína, también se ha asociado con el riesgo de padecer la enfermedad (Lara, 2010; Seiichiro, 2011; Randa, 2012).

Un número considerable de variantes genéticas han sido analizadas en diferentes padecimientos respiratorios. En el caso particular de la EPOC, se considera a *TGFβ 1* (factor de crecimiento transformante beta, citocina reguladora de la respuesta inflamatoria) como un gen candidato, debido a que en algunas poblaciones, el cambio *Leu10Pro* y el polimorfismo de la región promotora *TFGβ 1 rs2241718* tienen mayor frecuencia en pacientes con esta enfermedad y tienen relación con el decremento de la función pulmonar observada en este grupo. Otro de los genes de interés ha sido *EPHX1* (epóxido hidrolasa microsomal) enzima que metaboliza el epóxido reactivo que se forma en la combustión del tabaco, por lo cual se ha supuesto que la variación en la actividad de esta enzima contribuye a la susceptibilidad de padecer la EPOC. En general, han sido analizadas dos variantes genéticas Tyr113His e His139Arg, de las que se reporta que causan la reducción o el incremento en la actividad de esta enzima respectivamente. La *GSTP1* (glutatión S-transferasa P1) es otra enzima del metabolismo de xenobióticos, de la cual el polimorfismo Ile105Val tiene una mayor frecuencia en casos de EPOC que en individuos sanos, y está asociado con el decremento acelerado de la función pulmonar (He, 2004; Postma, 2011).

La asociación reportada en los trabajos realizados puede no ser concluyente debido a limitaciones como el tamaño de muestra, las diferencias en la etnicidad de los grupos estudiados

y la heterogeneidad de los casos de EPOC. La identificación de determinantes genéticos puede ayudar en el entendimiento del desarrollo y la progresión de la EPOC. Es posible que la variación genética ayude a comprender la heterogeneidad clínica en esta enfermedad, así como la variabilidad en la respuesta a tratamientos; por lo que su análisis podría generar nuevas herramientas en el desarrollo de diagnósticos y terapias estratificadas para cada uno de los fenotipos que se presentan en este padecimiento (Wain, 2012).

1.5. Inflamación en la EPOC

La inflamación se define como un proceso de reclutamiento y activación de las células del sistema inmune en respuesta a algún insulto o infección (Sherhan, 2007). Además, es el mecanismo básico de reparación de tejido disponible ante diferentes tipos de daño. Esta reparación consiste en una cascada celular y microvascular que remueve los componentes dañados y genera tejido nuevo (Gert, 2006). Generalmente la EPOC está asociada con la inflamación de las vías aéreas centrales y periféricas, parénquima y vasos sanguíneos pulmonares. Se presenta el aumento de células mononucleares (macrófagos y linfocitos T), un mayor número de neutrófilos y eosinófilos, hiperplasia de células calciformes (encargadas de la secreción de moco) y metaplasia del epitelio de las vías respiratorias.

Entre los diferentes tipos celulares, se ha visto que los neutrófilos tienen una importante participación en la respuesta inmune característica de la EPOC. Se propone como una de las células efectoras principales en el desarrollo de esta enfermedad, ya que varios estudios muestran que pacientes con EPOC tienen niveles mayores de neutrófilos en esputo, sangre periférica y lavado broncoalveolar comparado con fumadores sin este padecimiento. Este incremento puede ser resultado de una intensa migración de células de los vasos sanguíneos al tejido pulmonar debido a factores quimiotácticos, que son mediadores solubles clasificados como citocinas y quimioatrayentes (Schmidt-Ioanas 2005, Sapey, 2009).

Los macrófagos por su parte, participan también en la respuesta inflamatoria de la EPOC. Existe un marcado aumento (de cinco a diez veces) de estas células en las vías aéreas, parénquima pulmonar, lavado broncoalveolar y esputo de pacientes con esta enfermedad. Dichas células están localizadas en sitios de destrucción alveolar, además de que se ha encontrado correlación entre su número y la severidad del padecimiento. Se ha visto que los macrófagos de pacientes secretan una mayor cantidad de proteínas, comparado con los macrófagos de controles

fumadores y no fumadores. Dentro de las proteínas que se producen se encuentran las enzimas elastolíticas como las metaloproteasas, que están involucradas en la degradación del tejido pulmonar (Culpitt, 2002; Barnes 2014). Una vez activados, los macrófagos incrementan la producción de ROS, de óxido nítrico, y de citocinas como TNF- α , IL-1 β , IL-6 e IL-8. La activación de estas células aumenta la eficiencia en la eliminación de agentes patógenos pero puede generar daño en el tejido, además de un proceso inflamatorio.

1.5.1. Citocinas como mediadores de la inflamación en la EPOC

Diversos componentes son los que actúan como mediadores de la inflamación en la EPOC, incluyendo lípidos, radicales libres, citocinas, quimiocinas y factores de crecimiento (Barnes; 2014). Estos mediadores son producidos por células inflamatorias y estructurales del pulmón y la interacción entre ellas es un punto de suma importancia en el entendimiento de la patogénesis y progresión de la enfermedad.

Específicamente, las citocinas han sido relacionadas con el desarrollo de la EPOC ya que tienen una participación clave en el proceso de inflamación crónica. Se han identificado alrededor de cincuenta citocinas relacionadas con la EPOC que interactúan entre ellas a través de redes complejas, algunas tienen diversas funciones y sitios de acción dependiendo del tipo celular y el contexto inflamatorio (Barnes, 2009). Dentro de las citocinas proinflamatorias se identifican a TNF- α , IL-1 β e IL-6, ya que se ha descrito una mayor concentración de estas proteínas en pacientes con EPOC y que además participan en la activación de factores de transcripción como NF-kB (factor de transcripción nuclear) que puede iniciar la expresión de múltiples genes de la cascada inflamatoria. Por lo anterior, esta clase de citocinas amplifican la respuesta inflamatoria y a menudo están asociadas con la severidad de la enfermedad (Barnes, 2008).

En el caso de TNF- α se describe que se encuentra incrementada en esputo de pacientes con EPOC, especialmente cuando hay complicaciones de la enfermedad. También se ha asociado a la pérdida de peso de los pacientes de la EPOC ya que hay un aumento en la secreción de esta citocina a nivel sistémico.

Por otro lado, se ha visto que la interleucina 1 beta (IL-1 β) es uno de los componentes que activa los macrófagos de pacientes con EPOC y provoca que secreten citocinas, quimiocinas y metaloproteasas de la matriz extracelular (MMPs). La concentración de esta citocina es mayor en pacientes, además de que existe una correlación entre su cantidad y la severidad de la enfermedad (Barnes, 2009).

Por su parte, la interleucina 6 (IL-6) es una citocina que participa en coordinación con otras, por lo que se propone como el enlace entre la inmunidad innata y la adquirida. Esta proteína aumenta en esputo, exhalación y plasma de pacientes con EPOC. El aumento en la concentración en el plasma se correlaciona con el incremento en los niveles de la proteína C reactiva, cuya participación en el desarrollo de la EPOC tiene relevancia a nivel sistémico. Debido a la estabilidad que esta citocina tiene en la circulación, se plantea que puede estar involucrada en algunas características sistémicas de la enfermedad (Buchioni, 2003; Barnes, 2009).

1.5.2. Interleucina-6

La interleucina 6 (IL-6) es una proteína pleiotrópica con acción proinflamatoria y antifamatoria. Se produce en células de tipo linfoide y no linfoide tales como linfocitos B y T, monocitos, fibroblastos, células endoteliales, entre otras (Kishimoto, 1989). Regula procesos fisiológicos en varios tejidos, incluyendo la inflamación, el crecimiento celular, la respuesta inmune antígeno específica, la hematopoyesis y la producción de proteínas de fase aguda (proteínas sintetizadas principalmente por el hígado y que varían su concentración en respuesta al estímulo de citocinas) (Ataie, 2013). Promueve la diferenciación y madurez de los linfocitos B y T, participa en la estimulación de linfocitos B para la producción de inmunoglobulinas. Algunos estudios resaltan que una de sus funciones principales es la inhibición de la síntesis de citocinas proinflamatorias como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), interleucina 1 beta (IL-1 β) e interferón gamma (IFN- γ) (Sánchez, 2005; Glung, 2008). Ha sido considerada como un mediador central en enfermedades autoinmunes y de inflamación crónica (Ataie, 2013). Los padecimientos mediados por la inflamación en los que se ha descrito la intervención de la IL-6 son enfermedades coronarias y pulmonares, artritis reumatoide, esclerosis múltiple, osteoporosis, enfermedad de Parkinson y lupus eritematoso sistémico (Saavedra, 2011; Ataie, 2013).

En condiciones homeostáticas los niveles de IL-6 en suero son bajos. Sin embargo, cuando hay condiciones de estrés su cantidad aumenta rápidamente (Willscot, 2007). Una vez que existe una infección severa se suscita una respuesta sistémica, caracterizada por fiebre, aumento de leucocitos y la producción de diferentes proteínas en el hígado. Las principales señales proinflamatorias que generan esta respuesta es el incremento en la concentración de TNF- α , IL-1 β e IL-6; siendo esta última la de mayor facilidad de detección en suero y la principal responsable de la secreción de proteínas de fase aguda. En los casos de septicemia (respuesta

inflamatoria exagerada a la infección microbiana) los niveles de IL-6 se elevan de forma notable y existe una correlación entre la severidad de la infección y la mortalidad (Willscot, 2007).

1.5.3. Polimorfismos genéticos de IL-6

La variabilidad fenotípica a nivel individual y la susceptibilidad o resistencia a enfermedades radica mayoritariamente en los polimorfismos de un solo nucleótido (SNP's), sustituciones en el DNA que frecuentemente son llevadas a cabo en un nucleótido específico del DNA. La mayor parte de los SNPs constan de dos alelos los cuales están representados por una sustitución de una base por otra. A nivel poblacional estos alelos se clasifican en alelo silvestre o *wild type* y un alelo mutante, esto basado en las frecuencias que se observan en cada población. Estas variaciones pueden encontrarse en la región promotora del gen, en intrones, en sitios de *splicing* o en regiones codificantes (modulando la estabilidad de las proteínas) (Checa, 2007).

Las variantes polimórficas de *IL-6* han sido objeto de estudio en diferentes poblaciones en el análisis de enfermedades vinculadas a procesos inflamatorios, tales como artritis reumatoide, periodontitis, lepra, entre otras. El creciente conocimiento acerca de la susceptibilidad genética individual y su relación con el sistema inmune ha identificado tres principales SNPs dentro de la región promotora del gen *IL-6* en las posiciones -174 (G/C) (rs1800795), -572 (G/C) (rs1800796) y -597 (T/A) (rs1800797) y su posible relación con diversas enfermedades, incluyendo a la EPOC (Tabla 2). Si bien estos análisis se han enfocado principalmente en la variantes -174 G/C y -572 G/C se ha propuesto que debido a su posición (Figura 2) los tres SNPs podrían transmitirse de forma conjunta durante la meiosis, es decir que pueden estar en desequilibrio de ligamiento (Wyszynski, 1998; Terry, 2000; Fedetz, 2001; Müller, 2006).

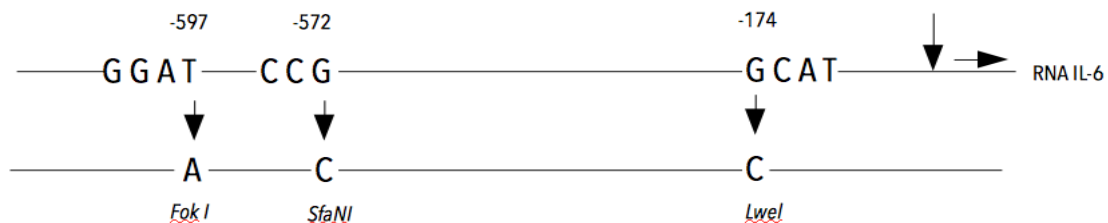


Figura 2.- Diagrama que representa los sitios polimórficos en la región promotora del gen *IL-6* que han sido analizados en estudios epidemiológicos, además de las enzimas de restricción empleadas en la determinación de cada uno de los genotipos.

Tabla 2.- Frecuencias de polimorfismos de IL-6 analizados en diferentes poblaciones.

Polimorfismo	Padecimiento	Población	Casos/Controles	OR (95% IC)	p valor	Referencia
IL-6 -174 G/C	EPOC	Española	191/296	0.96 (0.68-1.35)	0.79	Córdoba, 2009.
IL-6 -174 G/C	Obesidad e hiperglucemia	Mexicana	745/ -	5.34 (1.80-15.83)	<0.01*	Ramírez, 2012.
IL-6 -572 G/C	Cáncer gástrico	Asiática	178/151	1.18 (0.66-2.21)	0.57	Kang, 2009.
IL-6 -572 G/C	EPOC	Española	191/296	0.47 (0.24-0.95)	0.03*	Córdoba, 2009.
IL-6 -572 G/C	Artritis reumatoide	Mexicana	137/102	0.76 (0.44-1.32)	0.29	Zavaleta, 2013.
IL-6 -572 G/C	Periodontitis	Caucásica	122/ -	2.53 (1.46-4.38)	0.0004*	Scapoli, 2011.
IL-6 -597 G/A	Lepra	India	2447/1294	1.11 (1.1-1.64)	0.008*	Aggarwal, 2011.

OR= *odds ratio* (Razón de momios). IC= Intervalo de confianza. *valores estadísticamente significativos.

2. Justificación

Existen trabajos realizados en diversas poblaciones que describen el proceso inflamatorio característico de la EPOC y la participación de diferentes mediadores en este mecanismo. La interleucina 6 es una de las citocinas con mayor actividad en el pulmón y el aumento en su concentración se ha relacionado con la disminución de la capacidad pulmonar. Debido a esto, la determinación de la frecuencia de los polimorfismos -174 G/C, -572 G/C y -597 T/A en un estudio epidemiológico de casos y controles en la población mexicana puede brindar información acerca de su papel en la susceptibilidad de padecer la EPOC, cuya incidencia y mortalidad han aumentado a lo largo del tiempo en nuestro país.

3. Hipótesis

Las frecuencias de los polimorfismos -174 (G/C), -572 (G/C) y -597 (T/A) de *IL-6* serán diferentes en una muestra de pacientes mexicanos con diagnóstico de EPOC (casos) comparadas con una muestra de individuos mexicanos sanos sin diagnóstico de esta enfermedad al momento de tomar la muestra sanguínea (controles).

4. Objetivo general

Determinar la asociación de los polimorfismos -174 G/C, -572 G/C y -597 G/A de *IL-6* con el riesgo de padecer EPOC en una muestra de la población mexicana.

4.1. Objetivos particulares

1. Determinar la frecuencia de los polimorfismos -174 G/C, -572 G/C y -597 T/A de *IL-6* en una muestra de pacientes mexicanos diagnosticados con EPOC (casos).
2. Determinar la frecuencia de los polimorfismos -174 G/C, -572 G/C y -597 T/A de *IL-6* en una muestra de individuos mexicanos sin diagnóstico de EPOC (controles).
3. Comparar las frecuencias genotípicas y alélicas de los polimorfismos en muestras de pacientes con diagnóstico de EPOC y muestras de individuos sin diagnóstico de EPOC.
4. Determinar si los polimorfismos -174 G/C, -572 G/C y -597 T/A de *IL-6* se encuentran en desequilibrio de ligamiento en las muestras de casos y controles.
5. Determinar la asociación de los polimorfismos 174 G/C, -572 G/C y -597 T/A de *IL-6* con la EPOC considerando los factores de riesgo tabaquismo, exposición a humo de leña, sexo y edad.

5. Materiales y métodos

5.1. Sujetos de estudio

Las muestras correspondientes a casos fueron colectadas en la clínica de EPOC del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias Ismael Cosío Villegas (INER) de 2011 al 2014. Las muestras sanguíneas de población abierta fueron colectadas en el Banco de Sangre del Hospital 20 de noviembre del ISSSTE en la Ciudad de México, de octubre del 2001 a noviembre del 2004 y fue autorizado su uso para este estudio. El protocolo de investigación fue aprobado por los Comités de Ética del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la Universidad Nacional Autónoma de México (IIB UNAM) y del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias Ismael Cosío Villegas (INER).

5.2. Diseño del estudio de casos y controles

De acuerdo con las frecuencias de cada polimorfismo determinadas en trabajos realizados en población mexicana, se calculó con la siguiente fórmula el número mínimo de muestras requerido para un estudio de casos y controles (Campbell, 1995; Saik, 2010).

$$n = \left[\frac{z\left(\frac{\alpha}{2}\right) \sqrt{2p(1-p)} + z_{1-\beta} \sqrt{p_1(1-p_1) + p_2(1-p_2)}}{p_1 - p_2} \right]^2$$

Figura 3.- En la que $Z_{\alpha/2}$ es igual a 1.96, para lograr un nivel de confianza del 95%, $z_{1-\beta} = 0.80$ para un poder estadístico del 80%, p_2 es la frecuencia de exposición de los controles, p_1 es un estimado de la frecuencia de exposición de los casos (derivados de los reportes previos de Mendoza, 2010 y Ramírez, 2012), y $p = (p_1 + p_2)/2$.

De acuerdo con las frecuencias alélicas determinadas en trabajos previos se estima que el número de muestra necesario para un estudio de casos y controles para *IL-6 -174 G/C* es de 140 casos y controles, 322 casos y controles para *IL-6 -572 G/C* y 198 casos y controles para *IL-6 -597 G/A* (Tabla 3).

Tabla 3.- Frecuencias alélicas de los polimorfismos -174 G/C, -572 G/C y -597 G/A de *IL-6* en trabajos realizados con población mexicana. Estimado de muestras necesarias para el estudio de casos y controles.

Polimorfismo	Individuos	(p)	(q)	Valor p	Autor	(n) estimada
IL-6 -174 G/C	100	0.898	0.102	0.001	Mendoza, 2010	140
IL-6 -572 G/C	40	0.700	0.299	0.263	Ramírez, 2012	322
IL-6 -597 G/A	745	0.848	0.151	0.580	Ramírez, 2012	198

5.3. Criterios de inclusión y de exclusión

Las muestras empleadas corresponden a sujetos mexicanos (nacidos en México, con padres y abuelos mexicanos), no relacionados entre sí. Los participantes brindaron información a través de un cuestionario, en el que se incluyeron variables epidemiológicas (lugar de nacimiento, edad, sexo, tabaquismo, exposición a contaminantes ambientales, etc.), y firmaron una carta de consentimiento informado.

Tabla 4.- Criterios considerados en la colecta de las muestras para el estudio de casos y controles.

Muestra	Inclusión	Exclusión
Casos	-Individuos mexicanos (padres y abuelos mexicanos) -Con diagnóstico de EPOC (Bronquitis crónica o enfisema pulmonar) -No relacionados	-Individuos extranjeros -Información incompleta -Diagnóstico de asma -Relacionados
Controles	-Individuos mexicanos (padres y abuelos mexicanos) --Sin diagnóstico de EPOC hasta el momento de la toma de muestra. -No relacionados	-Individuos extranjeros -Información incompleta -Relacionados

5.4. Colecta y procesamiento de muestras

Durante el periodo de colecta de muestras sanguíneas de casos de EPOC se obtuvieron 300 muestras, de las cuales 165 fueron excluidas del estudio debido a que no cumplían con los criterios de inclusión. Las 135 muestras restantes fueron genotipificadas para los tres polimorfismos. Finalmente de este grupo de muestras fue posible aparear sólo 75 por sexo y edad debido a que no existía esta información para las 135 muestras. El conjunto de muestras que conformaron al grupo control (75) igualmente fue genotipificado para las tres variantes polimórficas. (Tabla 5).

Tabla 5.- Total de muestras incluidas en el estudio.

Muestras	(n)	Eliminadas	Genotipificadas	Pareadas
Casos	300	165	135	75
Controles	75	0	75	75

Las muestras colectadas consistieron en 5 mL de sangre periférica obtenida mediante punción venosa. Se realizó la extracción de DNA genómico por el método de gradiente de sacarosa (Daly, 2006). Se comprobó la integridad del DNA a través de geles de agarosa al 1% y la pureza de las muestras se evaluó con la determinación de relación de absorbancia 260/280 nm en espectrofotómetro (NanoDrop).

5.5. Genotipificación

Para cada uno de los polimorfismos, se utilizó la técnica de PCR (reacción en cadena de la polimerasa por sus siglas en inglés) acoplada a RFLP's (polimorfismos de longitud de fragmentos

de restricción por sus siglas en inglés). La amplificación fue realizada en un termociclador Multigene OPTIMAX LabNet Inc. (condiciones en Tabla 6). Una vez amplificados los fragmentos fueron digeridos con enzimas de restricción de acuerdo a las instrucciones especificadas por el fabricante (Thermo Scientific). Con la finalidad de reconocer los sitios de corte, los fragmentos fueron separados por electroforesis en geles de agarosa al 4% y posteriormente visualizados en un transiluminador (Bio-Rad, CA).

Tabla 6.- Oligonucleótidos, tamaño de amplicón, enzimas de restricción y condiciones empleadas en la genotipificación de los polimorfismos.

Polimorfismo	Oligonucleótidos 5'-3'	PCR (Temperatura de alineamiento)	Número de ciclos	Tamaño amplicón (pb)	Enzima de restricción	Condiciones digestión	Tamaño de fragmentos digeridos (pb)
IL-6 -174 G/C	F: TGACTTCAGCTTTACTCTTTGT R: CTGATTGGAACCTTATTAAG	59°C	36	198	<i>LweI</i>	0.3 μ l 16 h	WT-140 H-140/198 M-198
IL-6-572 G/C	F: GGAGACGCCTTGAAGTAACTGC R: GGTCTGACTCCATCGCAG	66°C	33	163	<i>SfaNI</i>	0.3 μ l 16 h	WT-102/61 H-163/102 M-163
IL-6-597 G/A	F: GGAGACGCCTTGAAGTAACTGC R: GGTCTGACTCCATCGCAG	66°C	33	163	<i>FokI</i>	0.4 μ l 30 min	WT-525 H-525/468 M-468

PCR= Reacción en cadena de la polimerasa. pb= pares de bases. μ l= microlitros. WT= homócigo *wild type*, H=Heterócigo, M=homócigo mutante.

5.6. Análisis estadístico

El equilibrio de Hardy Weinberg y el equilibrio de ligamiento se determinaron en la muestra de casos y controles usando el programa SNPStats (<http://bioinfo.iconcologia.net/SNPstats>). El análisis de asociación con el riesgo epidemiológico de padecer EPOC fue determinado utilizando una prueba de X^2 , con un intervalo de confianza (IC) del 95% en el programa GraphPad Prism 5. Las diferencias estadísticas se consideraron significativas con un valor de $p < 0.05$.

6. Resultados

Los genotipos que se incluyeron en este estudio estuvieron bajo el equilibrio de Hardy-Weinberg. En la tabla 7 se muestra la determinación del desequilibrio de ligamiento entre los tres polimorfismos. En las muestras del grupo de casos se encontró que los sitios polimórficos -174 y -572, así como los sitios -572 y -597 están en desequilibrio de ligamiento.

Tabla 7.- Determinación del equilibrio de ligamiento entre los polimorfismos -174 G/C,-572 G/C y -597 T/A de *IL-6*.

Casos			Controles		
Polimorfismos	D'	p valor	Polimorfismos	D'	p valor
-174 GC / -572 GC	0.998	0.004*	-174 GC / -572 GC	0.535	0.02
-174 GC / -597 TA	0.537	0.000	-174 GC / -597 TA	0.201	0.013
-572 GC / -597 TA	0.790	0.005*	-572 GC / -597 TA	0.427	0.005

D'= desequilibrio de ligamiento.

Los individuos con diagnóstico de EPOC incluidos en este estudio tuvieron edades de entre 37 y 94 años, con una media de edad de 69.35 años. La descripción de los factores de riesgo para el desarrollo de la EPOC para el total de casos se muestra en la tabla 8.

Tabla 8.- Características de la población total de casos (individuos diagnosticados con EPOC) n=135.

Característica	n(%)
Sexo	
Masculino	59 (43.7)
Femenino	35 (25.92)
ND	41 (26.79)
Tabaquismo	
Si	78 (57.7)
No	16 (11.85)
ND	41 (30.37)
Edad (media)	
Edad (total)	69.35
Masculino	68.85
Femenino	69.44

ND= Dato no disponible

Cuando se parearon las muestras por sexo y edad, se evaluaron los factores de riesgo para desarrollar la EPOC comparando casos y controles. Se pudo observar que existe un mayor número de individuos fumadores en el grupo de casos al comparar con los controles (Tabla 9).

Tabla 9. - Características de la población de estudio, casos (pacientes con EPOC) y grupo control, pareados por sexo y edad (n=75).

	Casos pareados	Controles	p valor
Sexo			
	n(%)	n(%)	
Masculino	35 (53.3)	35 (53.3)	1.00
Femenino	40 (46.6)	40 (46.6)	1.00
Edad			
	Media	Media	
Total	68.73	68.44	0.89
Masculino	69.35	67.91	0.78
Femenino	68.02	69.21	0.87
Tabaquismo			
	n(%)	n(%)	
Si	61 (81.33)	36 (48)	
No	7 (9.33)	38 (50.66)	0.001*
ND	7 (9.33)	1 (1.33)	
Exposición a humo de leña			
	n(%)	n(%)	
Si	22 (29.3)	19 (25.3)	
No	46 (61.3)	43 (57.3)	0.83
ND	7 (9.3)	13 (17.3)	

Chi cuadrada. ND=dato no disponible. *Valor estadísticamente significativo.

Se realizaron tablas de contingencia con el fin de observar la relación entre los factores exposición a humo de leña y tabaquismo con el sexo de los individuos incluidos en el estudio. Se observaron diferencias significativas en el grupo del sexo masculino ya que hay una mayor cantidad de fumadores comparada con los no fumadores (Tabla 10).

Tabla 10.- Asociación entre factores de riesgo (exposición a humo de leña y tabaquismo) y el sexo.

Exposición a humo de leña y sexo								
	Masculino				Femenino			
	Expuesto (%)	No expuesto (%)	ND (%)	p valor	Expuesto (%)	No expuesto (%)	ND (%)	p valor
Casos	6 (4)	26 (17.3)	7 (4.6)	0.74	16 (10.6)	20 (13.3)	4 (2.6)	0.68
Controles	8 (5.3)	22 (14.6)	6 (4)		11 (7.3)	21 (14)	3 (2)	
Total	14 (9.3)	48 (32)	13 (8.6)		27 (18)	41 (27.3)	7 (4.6)	
Tabaquismo y sexo								
	Masculino				Femenino			
	Fumador (%)	No fumador (%)	ND (%)	p valor	Fumador (%)	No fumador (%)	ND (%)	p valor
Casos	31 (20.6)	1 (0.66)	4 (2.6)	0.0016*	30 (20)	6 (4)	2 (1.3)	0.0001*
Controles	21 (14)	13 (8.6)	2 (1.3)		15 (10)	25 (16.6)	0	
Total	52 (34)	14 (9.3)	6 (4)		45 (30)	31 (20.6)	2 (1.3)	

Chi cuadrada. ND= Dato no disponible. *Valor estadísticamente significativo.

Se determinaron las frecuencias genotípicas y alélicas del total de caso de pacientes con EPOC. Se observa una prevalencia del genotipo homocigilo silvestre o *wild type* (WT) y del alelo G (p) en los tres polimorfismos (Tabla 11).

Tabla 11.- Frecuencias de los polimorfismos -174 G/C, -572 G/C y -597 T/A de *IL-6* de la muestra total de pacientes con EPOC.

Polimorfismo	Alelo mutante	(n) Casos	Frecuencias genotípicas			Frecuencias alélicas	
			Homocigilo silvestre o <i>wild type</i>	Heterocigilo	Homocigilo mutante	Alelo p	Alelo q
-572 G/C	C	135	0.585	0.311	0.103	0.892	0.312
-597 T/A	A	135	0.666	0.303	0.029	0.818	0.18

Alelo p=silvestre, alelo q=mutante.

Al determinar las frecuencias genotípicas y alélicas de las muestras pareadas por sexo y edad, se encontró que la frecuencia del genotipo heterocigo de la variante -572 G/C es mayor en el grupo de controles comparado con el de casos. De igual manera, la frecuencia del genotipo -597 A/A fue mayor en el grupo de individuos control al compararla con la frecuencia de los individuos diagnosticados con la EPOC. En cuanto a las frecuencias alélicas se observa una mayor frecuencia del alelo G (p) en los tres polimorfismos (Tabla 12).

Tabla 12.- Frecuencias (alélicas y genotípicas) de los polimorfismos -174 G/C, -572 G/C y -597 T/A de *IL-6* en las muestras pareadas por sexo y edad (casos y controles).

	Alelo mutante	Frecuencias genotípicas						Frecuencias alélicas			
		Homocigo silvestre o <i>wild type</i>		Heterocigo		Homocigo mutante		Alelo p		Alelo q	
		Casos	Controles	Casos	Controles	Casos	Controles				
								Casos	Controles	Casos	Controles
-174	C	0.76	0.70	0.24	0.29	-	-	0.88	0.85	0.12	0.14
-572	C	0.58	0.37	0.24	0.50	0.17	0.12	0.7	0.62	0.29	0.37
-597	A	0.66	0.49	0.32	0.37	0.01	0.13	0.82	0.68	0.17	0.32

Alelo p=silvestre, alelo q=mutante.

Al determinar la asociación de los polimorfismos con el riesgo de padecer la EPOC, se pudo observar que tanto el genotipo heterocigoto, como el genotipo mutante de la variante -572 G/C se asocian con un menor riesgo de padecer la EPOC, sin embargo sólo el heterocigoto es estadísticamente significativo. En un caso similar, el genotipo homocigoto mutante de la variante -597 resultó con una asociación de no riesgo estadísticamente significativa. (Tabla 13).

Tabla 13.- Asociación de los polimorfismos -174 G/C, -572 G/C y -597 T/A de *IL-6* con el riesgo de padecer EPOC en una muestra de la población mexicana.

Polimorfismo		Casos n (%)	Controles n (%)	OR	IC 95%	Valor de p
-174	GG	57 (75)	53 (69.73)	GC/GG=0.76	0.36-1.57	0.46
	GC	18 (23.68)	22 (28.94)	CC/GG= 0.92	0.05-15.25	0.95
	CC	0	0			
-572	GG	44 (58.66)	28 (37.33)	GC/GG= 0.30	0.11-0.62	0.001*
	GC	18 (24)	38 (50.66)	CC/GG= 0.91	0.34-2.43	0.86
	CC	13 (17.33)	9 (12)			
-597	TT	50 (66.66)	37 (49.33)	TA/TT= 0.63	0.31-1.26	0.19
	TA	24 (32)	28 (0.32)	AA/TT=0.07	0.009-0.60	0.002*
	AA	1 (1)	10 (13)			

OR=odds ratio (Razón de momios). IC= Intervalo de confianza. *Valor estadísticamente significativo.

Se estratificaron las muestras (casos y controles) por índice tabáquico, exposición a humo de leña, sexo y edad. Se analizó la asociación de los polimorfismos y el riesgo de padecer la EPOC por medio de la prueba χ^2 , esto en el supuesto de un modelo biológico codominante. Debido a las asociaciones obtenidas se realizó también el análisis bajo un modelo dominante, con el fin de observar si las asociaciones obtenidas coincidían en ambos modelos.

En la estratificación por hábito tabáquico pudo observarse que los individuos fumadores con genotipo -572 heterócigo (GC) tuvieron un menor riesgo de padecer la EPOC en un modelo codominante. Esta asociación fue encontrada de igual forma al analizar la información en un modelo dominante. En el caso del polimorfismo -597 T/A se encontró que los individuos con genotipo homócigo mutante tienen un menor riesgo comparado con los individuos no fumadores esto en un modelo codominante (Tabla 14).

Tabla 14.- Asociación de los polimorfismos con el riesgo de padecer EPOC de acuerdo con el índice tabáquico.

Fumadores						No fumadores				
Genotipo	Casos	Controles	OR	IC 95%	p valor	Casos	Controles	OR	IC 95%	p valor
IL6 -174										
MODELO CODOMINANTE										
WT- GG	45	26	1.0			7	26	1.0		
HET- GC	16	10	0.92	0.36-2.33	0.86	0	12	0.14	0.007-2.67	0.08
MUT-CC	0	0	-	-	-	0	0	-	-	-
MODELO DOMINANTE										
WT	45	26				7	26			
HET+ MUT	16	10	0.92	0.36-2.33	0.86	0	12	0.14	0.007-2.67	0.08
IL6 -572										
MODELO CODOMINANTE										
WT- GG	37	13	1.0			3	15	1.0		
HET- GC	14	20	0.24	0.09-0.62	0.0025*	1	17	0.29	0.02-3.14	0.28
MUT- CC	10	3	1.17	0.27-4.92	0.82	3	6	2.5	0.38-16.06	0.32
MODELO DOMINANTE										
WT	37	13				3	15			
HET+ MUT	24	23	0.36	0.15-0.85	0.01	4	23	0.86	0.16-4.45	0.86
IL-6-597										
MODELO CODOMINANTE										
WT- TT	40	18	1.0			5	18	1.0		
HET- TA	20	11	0.81	0.32-2.05	0.66	2	17	0.42	0.07-2.48	0.33
MUT- AA	1	7	0.06	0.007-0.56	0.002*	0	3	0.48	0.02-10.81	0.3689
MODELO DOMINANTE										
WT	40	18				5	18			
HET+ MUT	21	8	1.81	0.44-3.16	0.74	2	20	0.36	0.06-2.09	0.24

Chi cuadrada. OR=odds ratio (Razón de momios). IC= Intervalo de confianza. *Valor estadísticamente significativo.

Al dividir las muestras de acuerdo a la exposición a humo de leña y analizar los datos en un modelo codominante, se encontró que el grupo de individuos no expuestos con genotipo heterócigo para -572 tuvo un menor riesgo de padecer la EPOC. Al analizar los datos en un modelo dominante la asociación se mantiene de no riesgo para los genotipos heterócigo + homócigo mutante. En el caso del polimorfismo -597, en un modelo codominante pudo observarse que el grupo de individuos no expuestos tiene un menor riesgo de padecer la EPOC si su genotipo es homócigo mutante. En el grupo de individuos expuestos se encontró que el genotipo -597 TA también tiene una asociación negativa con el riesgo de padecer la EPOC en un modelo codominante la cual se confirma al analizar en un modelo dominante (Tabla 15).

Tabla 15.- Asociación de los polimorfismos con el riesgo de padecer EPOC de acuerdo con la exposición a humo de leña.

Expuestos						No expuestos				
Genotipo	Casos	Controles	OR	IC 95%	p valor	Casos	Controles	OR	IC 95%	p valor
IL6 -174										
MODELO CODOMINANTE										
WT- GG	19	14	1.0			33	30	1.0		
HET- GC	3	5	0.44	0.09-2.16	0.3	13	13	0.9	0.36- 2.26	0.83
MUT-CC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MODELO DOMINANTE										
WT	19	14				33	30			
HET+ MUT	3	5	0.44	0.09-2.16	0.3	13	13	0.9	0.36- 2.26	0.83
IL6 -572										
MODELO CODOMINANTE										
WT- GG	8	7	1.0			32	17	1.0		
HET- GC	8	8	0.87	0.21-3.58	0.85	7	22	0.16	0.06-0.47	0.0004*
MUT-CC	6	4	1.313	0.25-6.64	0.74	7	4	0.92	0.23-3.63	0.91
MODELO DOMINANTE										
WT	8	7				32	17			
HET+ MUT	14	12	1.02	0.28-3.65	0.97	14	26	0.28	0.11-0.68	0.004**
IL-6-597										
MODELO CODOMINANTE										
WT- TT	18	10	1.0			27	21	1.0		
HET-TA	4	9	0.24	0.06- 1.01	0.04*	18	12	1.16	0.46-2.94	0.74
MUT-AA	0	0	-	-	-	1	10	0.07	0.009-0.65	0.0047*
MODELO DOMINANTE										
WT	18	10				27	21			
HET+ MUT	4	9	0.24	0.06-1.01	0.04*	19	22	0.67	0.29-1.55	0.35

Chi cuadrada. OR=*odds ratio* (*Razón de momios*). IC= Intervalo de confianza. *Valor estadísticamente significativo.

En la estratificación de acuerdo a sexo y análisis mediante un modelo codominante, se observó que los hombres con genotipo heterócigo para -572 tienen un riesgo menor de padecer la enfermedad. Este hecho también se observa en el modelo dominante. En el polimorfismo -572 genotipo homócigo mutante también se encontró una asociación negativa con el riesgo de padecer la EPOC en el grupo de hombres (modelo codominante) (Tabla 16).

Tabla 16.- Asociación de los polimorfismos con el riesgo de padecer EPOC de acuerdo con el sexo.

Masculino						Femenino				
Genotipo	Casos	Controles	OR	IC 95%	p valor	Casos	Controles	OR	IC 95%	p valor
IL6 -174										
MODELO CODOMINANTE										
WT- GG	27	26	1			30	27	1		
HET- GC	8	9	0.85	0.28-2.55	0.78	10	13	0.69	0.26-1.83	0.45
MUT-CC	0	0	-	-	-	0	0	-	-	-
MODELO DOMINANTE										
WT	27	26				30	27			
HET+ MUT	8	9	0.85	0.28-2.55	0.78	10	13	0.69	0.26-1.83	0.45
IL6 -572										
MODELO CODOMINANTE										
WT- GG	23	14	1			21	14	1		
HET- GC	7	9	0.22	0.07-0.66	0.005*	11	19	0.38	0.14-1.05	0.06
MUT-CC	5	2	1.52	0.25-8.93	0.64	8	7	0.76	0.22-2.57	0.66
MODELO DOMINANTE										
WT	23	14				21	14			
HET+ MUT	12	21	0.34	0.13-0.91	0.03*	19	26	0.48	0.19-1.19	0.11
IL-6-597										
MODELO CODOMINANTE										
WT-TT	22	17	1			28	20	1		
HET-TA	13	11	0.91	0.32-2.53	0.86	11	17	0.46	0.17-1.19	0.1
MUT-AA	0	7	0.05	0.002-0.97	0.005*	1	3	0.23	0.02-2.46	0.19
MODELO DOMINANTE										
WT	22	17				28	20			
HET+ MUT	13	18	0.55	0.21-1.44	0.22	12	20	0.42	0.17-1.07	0.06

Chi cuadrada. OR=odds ratio (Razón de momios). IC= Intervalo de confianza. *Valor estadísticamente significativo.

Finalmente se realizó una estratificación de acuerdo a la edad reportada en otros estudios, dividiendo a los individuos en cuatro cohortes. Al realizar el análisis se pudo observar que los individuos 65 a 74 años con genotipo heterocigoto para -572 tiene un menor riesgo de padecer la enfermedad en un modelo codominante. En este mismo grupo de edad se encontró que los individuos con genotipo homocigoto mutante del polimorfismo -597 T/A tiene un menor riesgo de padecer la EPOC en el modelo codominante. Esta asociación negativa también se encontró al analizar los datos en un modelo dominante.

Por otra parte, en el grupo de individuos mayores de 75 años con genotipo heterocigoto del polimorfismo -174 G/C se observó una asociación negativa con el riesgo de padecer la enfermedad en un modelo codominante. Esta asociación de menor riesgo se observa de igual forma al analizar esta variante en un modelo dominante (Tabla 17).

Tabla 17.- Asociación de los polimorfismos genéticos con el riesgo de padecer EPOC de acuerdo con la edad.

IL6 -174 G/C						IL6 -572 G/C					IL6 -597 T/A				
Genotipo	Casos	Controles	OR	IC 95%	p valor	Casos	Controles	OR	IC 95%	p valor	Casos	Controles	OR	IC 95%	p valor
37-54															
MODELO CODOMINANTE															
WT	4	6	1.0			3	2	1.0			4	4	1.0		
HET	1	0	4.33	0.14-132.4	0.25	2	3	0.44	0.03-5.58	0.52	1	0	3	0.09-95.25	0.34
MUT	0	0	-	-	-	0	1	0.23	0.006-8.62	0.27	0	2	0.2	0.007-5.45	0.19
MODELO DOMINANTE															
WT	4	6				3	2				4	4			
HET+MUT	1	0	0.23	0.007-7.05	0.25	2	4	0.33	0.02—3.92	0.37	1	2	0.5	0.03-7.99	0.62
55-64															
MODELO CODOMINANTE															
WT	13	19	1.0			12	12	1.0			12	12	1.0		
HET	6	4	1.03	0.22-4.76	0.96	4	9	0.44	0.10 -1.84	0.25	7	8	0.87	0.24-3.18	0.83
MUT	0	0	-	-	-	3	2	1.500	0.21-10.65	0.68	0	3	0.14	0.006-3.06	0.1
MODELO DOMINANTE															
WT	13	19				12	12				12	12			
HET+MUT	6	4	1.03	0.22-4.76	0.96	7	11	0.63	0.18-2.2	0.47	7	11	0.63	0.18-2.2	0.47
65-74															
MODELO CODOMINANTE															
WT	23	17	1.0			18	8	1.0			21	9	1.0		
HET	8	6	0.98	0.28-3.37	0.98	6	11	0.24	0.06-0.88	0.028*	10	12	0.35	0.11-1.12	0.07
MUT	0	0	-	-	-	7	4	0.77	0.17-3.43	0.73	0	2	0.08	0.003-2.02	0.043*
MODELO DOMINANTE															
WT	23	17				18	8				21	9			
HET+MUT	8	6	0.98	0.28-3.37	0.98	13	15	0.38	0.12-1.17	0.09	10	14	0.30	0.09-0.94	0.03*

75-adelante

MODELO CODOMINANTE

WT	17	9	1.0			11	6	1.0			13	9	1.0		
HET	3	10	0.15	0.03-0.72	0.012*	6	11	0.29	0.07 -1.21	0.08	6	7	0.59	0.14-2.36	0.45
MUT	0	0	-	-	-	3	2	0.81	0.10-6.34	0.84	1	3	0.23	0.02-2.59	0.2

MODELO DOMINANTE

WT	17	9				11	6				13	19			
HET+MUT	3	10	0.15	0.03-0.72	0.012*	9	13	0.37	0.1-1.39	0.14	7	10	1.02	0.30-3.38	0.97

Chi cuadrada. OR=odds ratio (Razón de momios). IC= Intervalo de confianza. *Valor estadísticamente significativo.

Se agruparon las asociaciones estadísticamente significativas encontradas al analizar en el modelo codominante. Se observa una mayor cantidad de asociaciones en los polimorfismos -572 G/C y -597 T/A (Tabla 18).

Tabla 18.- Asociaciones significativas en el estudio. Modelo codominante.

MODELO CODOMINANTE	- 174 G/C			-572 G/C			-597 T/A		
Variable	Genotipo	OR	p valor	Genotipo	OR	p valor	Genotipo	OR	p valor
Fumadores				GC	0.24	0.002	AA	0.06	0.002
No fumadores									
Expuestos							TA	0.24	0.04
No expuestos				GC	0.16	0.0004	TA	0.07	0.004
Masculino				GC	0.22	0.005	AA	0.05	0.005
Femenino									
37-54 años									
55-64 años									
65-74 años				GC	0.24	0.02	AA	0.08	0.04
75 en adelante	GC	0.15	0.01						

Se agruparon las asociaciones estadísticamente significativas encontradas al analizar en el modelo dominante. Se observa una mayor cantidad de asociaciones en los polimorfismos -572 G/C (Tabla 19).

Tabla 19.- Asociaciones significativas en el estudio. Modelo dominante.

MODELO DOMINANTE	- 174 G/C			-572 G/C			-597 T/A		
	Genotipo	OR	p valor	Genotipo	OR	p valor	Genotipo	OR	p valor
Fumadores				GC+CC	0.36	0.010			
No fumadores									
Expuestos							TA+AA	0.24	0.04
No expuestos				GC+CC	0.28	0.004			
Masculino				GC+CC	0.34	0.03			
Femenino									
37-54 años									
55-64 años									
65-74 años							TA+AA	0.30	0.03
75 en adelante	GC+CC	0.15	0.01						

7. Discusión

Basados en las frecuencias obtenidas en trabajos anteriores, se determinó el tamaño de muestra necesario para un estudio de casos y controles en población mexicana (Tabla 3). Debido a la dificultad para la obtención de las muestras no fue posible alcanzar el tamaño de muestra estimado, sin embargo el trabajo fue realizado por la importante participación de las citocinas en el proceso inflamatorio que se presenta en la EPOC.

Al determinar el desequilibrio de ligamiento entre los tres polimorfismos se encontró que las variantes -174 G/C y -572 G/C se encuentran en desequilibrio de ligamiento, lo mismo se observó para -572 G/C y -597 T/A. Los trabajos que describen la asociación alélica entre estos tres polimorfismos mencionan que en población británica las variantes -174 G/C y -597 T/A se encuentran en desequilibrio de ligamiento, lo cual contrasta con los resultados obtenidos en este estudio (Brull, 2002; Rivera, 2003; Fife, 2005). Esta desviación del equilibrio entre dos o más polimorfismos se debe principalmente a su cercanía física, debido a que se pueden heredar pequeños bloques de SNPs cercanos y tener un efecto distinto a cuando se heredan en forma independiente. Varios autores señalan que algunas combinaciones de estos SNPs (denominados haplotipos) pueden modificar la regulación transcripcional en modelos *in vitro*, alterando procesos celulares como la respuesta inmune y la inflamación (Terry, 2000).

En nuestras muestras de casos y controles se pudo observar que la media de edad es similar a la descrita en trabajos anteriores en diferentes poblaciones (Córdoba, 2008; de Torres, 2011). Dentro de los factores de riesgo evaluados se encontró una diferencia significativa entre los hombres fumadores y los hombres no fumadores (Tabla 10). Esta diferencia se observa en diferentes estudios, donde se confirma la importancia del hábito tabáquico como un factor que puede contribuir al desarrollo de este padecimiento (de Torres, 2011; Syamlal, 2014). Al analizar la relación entre los polimorfismos y este hábito se observó que el grupo de individuos fumadores con genotipos -572 heterócigo o -597 homócigo mutante tienen un menor riesgo de padecer la enfermedad en un modelo codominante (Tabla 14). Se evaluaron estos polimorfismos en un modelo dominante y la asociación negativa se mantiene sólo en la variante -572. Esto concuerda con lo reportado en población española, donde también se observa que esta variante está asociada a un menor riesgo de padecer la enfermedad al comparar individuos fumadores sanos con pacientes diagnosticados con EPOC (Córdoba, 2008). En la búsqueda de la relación de estas

variantes y la concentración de IL-6 se ha encontrado que en muestras de individuos fumadores con genotipo -572 heterócigo y homócigo mutante existe una menor concentración de IL-6 en suero (Jerrard, 2004) (Kyung-Kyun, 2007). Este hecho puede significar que en los individuos con estos genotipos existe una menor intensidad en la respuesta inflamatoria a los compuestos contenidos en el humo de tabaco, lo cual puede estar relacionado con el menor riesgo de padecer EPOC que se encontró en este trabajo. De esta forma se fortalece la idea de que la variación genética está relacionada con la forma en que se da la inflamación en individuos fumadores (Kyung-Kyun, 2007). Sin embargo, se ha visto que el alelo C del polimorfismo -572G/C está relacionado con el incremento de la actividad del promotor del gen, en respuesta a IL-1B y TNF- α teniendo como efecto principal el aumento de la concentración de proteína C reactiva en células HepG2 (Ferrari, 2003). Debido a las diferencias en los estudios realizados, es preciso efectuar mayor investigación sobre esta variante ya que su participación en el desarrollo de enfermedades como la EPOC puede ser variable dependiendo de la población, o incluso del individuo de estudio.

En la muestra de casos y controles no se encontró diferencia en la proporción entre hombres y mujeres. Cuando se evaluó el riesgo de padecer la EPOC al separar de acuerdo al sexo, encontramos que los hombres cuyos genotipos fueran heterócigo para -572 o mutante para -597 tienen un menor riesgo de desarrollar la EPOC comparados con los genotipos silvestres (WT por sus siglas en inglés) (tabla 16). Si bien no fue posible definir una asociación estadísticamente significativa en el grupo de sexo femenino, en este trabajo se puede observar un comportamiento similar al del grupo masculino, al mostrar una tendencia a tener un menor riesgo de padecer EPOC. Históricamente se ha considerado a la EPOC como una enfermedad cuya prevalencia es mayor en hombres, sin embargo en las últimas décadas se ha sugerido que las mujeres también son susceptibles al desarrollo de la enfermedad (Diaz-Guzmán, 2013). Algunos autores señalan la participación de los factores genéticos como una posible explicación a la susceptibilidad del sexo femenino para el desarrollo de la enfermedad ya que pueden modular la actividad de componentes celulares que tienen efecto sobre la función pulmonar. Tal es el caso del estradiol el cual se ha visto que regula la actividad de las enzimas del citocromo P450 y hace que los pulmones de ratones hembra sean más susceptibles al daño oxidante en respuesta al humo de tabaco (Van Winkle, 2002; Aryal, 2013).

A pesar de que el humo de tabaco sigue considerándose como el factor de riesgo principal para el desarrollo de esta enfermedad, varios autores resaltan la importancia de la exposición a humo de leña como una posible explicación a los casos de EPOC en no fumadores. Diversos son los estudios epidemiológicos que documentan la relación entre el humo de leña y este padecimiento especialmente en países en desarrollo, sin embargo no hay mucha información acerca de los mecanismos a nivel celular y molecular que esta exposición provoca en el tejido pulmonar ni del vínculo entre variaciones genéticas y la enfermedad. En el presente trabajo se observó que el 27.3% de la muestra total de casos y controles está expuesta al humo de leña, siendo el 18% mujeres. Este resultado es similar a lo encontrado en la literatura, destacando el hecho de que las mujeres son el grupo con mayor exposición a humo de leña y por ende son susceptibles a afectaciones pulmonares (Dennis, 1996; Orozco, 2006).

Cuando se analizó la relación entre la exposición a humo de leña y los polimorfismos de IL-6 observamos que hay un riesgo menor en el grupo de individuos no expuestos a humo de leña con genotipos -572 heterócigo o -597 homócigo mutante (tabla 15). Destaca la importancia de la exposición a los agentes contenidos en el humo de leña y sus posibles efectos en el organismo los cuales van desde la inflamación pulmonar y sistémica (con un aumento de IL-6 en individuos expuestos), hasta niveles considerables de estrés oxidante y daño al DNA (Silva, 2015). En un estudio transversal realizado en población guatemalteca se observó una mayor expresión de genes asociados a la inflamación (MMP-9, IL-8 y TNF- α) en mujeres expuestas a humo de leña, este efecto se atribuye a la activación de células epiteliales y macrófagos como un mecanismo de reparación al daño ocasionado por los agentes presentes en el humo (Guarnieri, 2014). Por lo que la investigación de variantes en genes de componentes de la inflamación y su relación con la exposición a humo de leña es relevante, ya que podría existir diferencia en la forma en que se activan dichas células y quizá determinen la prognosis y/o el fenotipo de la EPOC en no fumadores expuestos por esta vía.

Por otro lado, se pudo observar que los individuos incluidos en este trabajo tuvieron edades entre 37 y 94 años. Al separarlos en cuatro grupos de acuerdo a su edad se encontró que el grupo de 65-74 años con genotipo heterócigo para -572 u homócigo mutante para -597 tuvieron una asociación negativa estadísticamente significativa con el riesgo de padecer EPOC. De igual forma este efecto se observó en el grupo de 75 años en adelante con genotipo heterócigo del polimorfismo -174 G/C. La relación que existe entre estas variantes y la edad ha sido mayormente estudiada en el

polimorfismo -174 G/C donde el genotipo homócigo silvestre (GG) presenta los mayores niveles de IL-6 en suero de hombres de 80 a 99 años. Se establece a esta variante como un factor genético asociado a la longevidad ya que una mayor cantidad de IL-6 puede ser señal de una inflamación exacerbada y que a menudo está involucrada en el desarrollo de diversas enfermedades a dicha edad (Bonafe, 2001). Esto puede justificar el riesgo menor observado en nuestro grupo de personas mayores de 75 años con genotipo heterócigo de -174 G/C, sugiriendo que el alelo C provoca una variación en la respuesta inflamatoria que podría estar involucrado con la disminución de los niveles de IL-6 que se describen en la literatura, lo que puede disminuir la susceptibilidad a enfermedades como la EPOC (Sharma, 2009; Chen 2012). En contraste los análisis de las frecuencias de los polimorfismos de -572 G/C y -597 T/A en la edad adulta han sido poco estudiados por lo que este trabajo contribuye con la descripción del papel de estos polimorfismos en la etiología de la EPOC en nuestra población.

Debido al tamaño de muestra utilizado en este trabajo, los resultados aquí presentados deben ser confirmados con un tamaño de muestra mayor con el fin de tener más evidencias de la participación de estos polimorfismos en el desarrollo de la EPOC en población mexicana.

8. Conclusión

- En una muestra de individuos mexicanos fumadores con los genotipos -572 GC ó -597 AA del gen *IL-6* se observó un menor riesgo de padecer la Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica.
- En una muestra de individuos mexicanos no expuestos a humo de leña con genotipo -572 GC ó -597 AA tuvieron un menor riesgo de padecer esta enfermedad.
- En la misma muestra se pudo observar que individuos con edad entre los 65 y 74 años con genotipo -572 GC ó -597 AA tienen un menor riesgo de padecer la EPOC.
- De igual forma, en el grupo de individuos mayores de 75 años con genotipo -174 GC se encontró un menor riesgo de padecer esta enfermedad.
- Los polimorfismos -174 y -572 se encontraron en desequilibrio de ligamiento en una muestra de pacientes con EPOC.
- Los polimorfismos -572 y -597 se encontraron en desequilibrio de ligamiento en una muestra de pacientes con EPOC.

9. Literatura consultada

Celli, B.; MacNee, W. Standards for the diagnosis and treatment of patients with COPD: a summary of the ATS/ERS position paper. *European Respiratory Journal*. 2004. 23:932-946.

Global Initiative for Chronic Obstructive Pulmonary Disease (GOLD). Pocket Guide to COPD <http://www.goldcopd.org/guidelines-pocket-guide-to-copd-diagnosis.html> Diagnosis, Management, and Prevention. Disponible en .

Provinciali, M.; Cardelli, M.; Marchegiani, F. Inflammation, chronic obstructive pulmonary disease and aging. *Current Opinion of Pulmonary Medicine*. 2011. 1:S3-10.

Yanvaeba, D.; Dentener, M.; Spruit, M.; Houwing, J.; Kotz, D.; Lima, V.; Wouters, E. *IL6 and CRP* haplotypes are associated with COPD risk and systemic inflammation: a case-control study. *BMC Medical Genetics*. 2009. 10:23.

Seretraría de Salud. Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias (INER). Información para médicos. Diagnóstico y Clasificación de la EPOC. Disponible en <http://www.iner.salud.gob.mx/principales/investigación/por-departamento/investigación-en-tabaquismo-y-epoc/investigación-en-tabaquismo-y-epoc/cl%C3%ADnica-de-epoc/cl%C3%ADnica-de-epoc/información-para-médicos-diagnóstico-y-clasificación-de-la-epoc.aspx>.

Mehrotra, S.; Sharma, A.; Kumar, S.; Kar, P.; Sharma, J. Polymorphism of glutathione S-transferase M1 and T1 gene LOCI in COPD. *International Journal or Immunogenetics*. 2010. 37:263-267.

Giraldo, H. EPOC, diagnóstico y tratamiento integral. Editorial Médica Internacional. Tercera edición. 2008. 390 p.

Tovar, V.; López, J.; Rodríguez, N. Recent Trends in Mortality Due to Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD) in Mexico, 1980–2002. *Archives of Medical Research*. 2005. 36-65-69.

Borja, G.; Alvar, A. Update in Chronic Obstructive Pulmonary Disease 2009. *Pulmonary and Critical Care Updates*. 2010. 181:665-660.

Organización Mundial de la Salud (OMS). EPOC. Mortalidad. 2012. Disponible en <http://www.who.int/respiratory/copd/burden/en>

Kyung-Kyun, S.; Jang, Y.; Jeong, S.; Sook, J.; Yoen, O.; Park, S.; Choi, D.; Shin, D.; Jin, H.; Ho, J. Influence of the IL-6 -572C > G polymorphism on inflammatory markers according to cigarette smoking in Korean healthy men. *Cytokine*. 2007. 39:116-122.

Barton, B. The Biological effects of Interleukin 6. *Medicinal Research Reviews*. 1996, 16:87-109.

Organización Mundial de la Salud (OMS). EPOC. Causas. 2012. Disponible en <http://www.who.int/respiratory/copd/causes/en/>

Menezes, A. Proyecto Latinoamericano de Investigación en Obstrucción Pulmonar. Asociación Latinoamericana del Tórax (ALAT). 2006. 45-52.

Reséndiz, J.; Camarena, A., Pérez, G.; Falfán, R. Mecanismos inmunológicos de la respuesta inflamatoria en EPOC. *Neumología y cirugía de tórax*. 2010. 69-4:210-217.

Barnes, P. The Cytokine Network in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *American Respiratory Cell Molecular Biology*. 2009. 41:631-638.

Barnes, P.; Drazen, J. Pathophysiology of Asthma. Asthma and COPD: Basic Mechanisms and Clinical Management. 2009.

Sandford, A.; Silverman, E. Chronic obstructive pulmonary disease c 1: Susceptibility factors for COPD the genotype–environment interaction. *Thorax*. 2002. 57:736-741.

Guerrero, C.; Muños, J.; Sáenz, B., Reynales, L. Consumo de tabaco, mortalidad y política fiscal en México. *Salud Pública México*. 2013. 2:S276-S281.

Pichon-Riviere, A.; Augustovski, F.; Bardach, A.; Colantonio, L. Development and validation of a microsimulation economic model to evaluate the disease burden associated with smoking and the cost-effectiveness of tobacco control interventions in Latin America. *Value health*. 2011. 5-1:S5-9.

Lomas, D.; Silverman, E. The genetics of chronic obstructive pulmonary disease. *Respiratory Research*. 2001. 2:20-26.

Hacievliyagil, S., Mutlu, L., Temel, I. Arway inflammatory markers in chronic obstructive pulmonary disease patients and healthy smokers. *Niger J Clin Pract*. 2013; 16:76-81.

Fernández, J.; Vendrell, J., Richart, C., Gutuereez, C.; Ricart, W. Platelet count and Interleukin 6 Gene polymorphism in healthy subjects. *BMC Medical Genetics*. 2001. 2:6.

Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. 2014.

Goncalves, R.; Coletta, R.; Silverio, K.; Benevides, L.; Casati, M.; da Silva, J.; Nocti, F. Impact of smoking on inflammation: overview of molecular mechanisms. *Inflammation Research*. 2011. 60:409-424.

Domagala, J. Effects of cigarette smoke on the lung and systemic immunity. *Journal of Physiology and Pharmacology*. 2008. 6:19-34.

Sopori, M. Effects of cigarette smoke on the immune system. *Nature reviews. Immunology*. 2002. 2:372-377.

Mazitova, N., Saveliev, A.; Berheeva, Z., Amirov, N. COPD and occupation: a retrospective cohort study of industrial workers. *Archives of industrial hygiene and toxicology*. 2012. 63(3):345-356.

Rodríguez, E.; Ferrer, J.; Zock, J.; Serra, I.; Antó, J.; de Batlle, J., Kromhout, H., Vermeulen, R.; Donaire, D.; Banet, M.; Balcells, E.; Monsó, E.; Gayete, A.; García, J. Lifetime Occupational Exposure to Dusts, Gases and Fumes Is Associated with Bronchitis Symptoms and Higher Diffusion Capacity in COPD Patients. *PLoS ONE*. 9(2): e88426.

Leigh, J., Driscoll, T.; Cole, B.; Hull, B.; Yang, J. Quantitative relation between emphysema and lung mineral content in coalworkers. *Occupational and Environmental Medicine*. 1994. 51(6):400-7.

Kasuga, I.; Hogg, J.; Paré, P.; Hayashi, S.; Sedwick, E.; Ruan, J.; Wallace, A.; He, J.; Zhang, X.; Sandford, A. Role of genetic susceptibility to latent adenoviral infection and decreased lung function. *Respiratory Medicine*. 2009. 103(11):1672-80.

Matsumoto, K.; Hiromasa, I. Viral infections in asthma and COPD. *Respiratory Investigation*. 2014. 52:92-100.

Retamales, I., Elliot, M.; Meshi, B.; Coxson, H.; Pare, P.; Sciruba, F.; Rogers, R.; Hayashi, S.; Hogg, J. Amplification of Inflammation in Emphysema and Its Association with Latent Adenoviral Infection. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2001. 164:469-473.

Postma, D.; Silverman, E. Genetics of Asthma and COPD. *Asthma and COPD: Basic Mechanisms and Clinical Management*. 2011.

Adcock, I.; Caramori, G.; Barnes, P. Chronic obstructive pulmonary disease and lung cancer: new molecular insights. *Respiration*. 2011. 81(4):265-84.

Postma, D., Kerkhof, M., Boezen, H., Koppelman, G. Asthma and Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *American Journal of Respiratory Critical Care Medicine*. 2011. 183:1588-1594.

Lara, B. EPOC y déficit de alfa-1-antitripsina. *Archivos de Bronconeumología*. 2010. 46:2-8.

Randa, A.; Young, R.; Hopkins, R.; Etzel, C. Genetic Predisposition to Chronic Obstructive Pulmonary Disease and/or Lung Cancer: Important Considerations When Evaluating Risk. *Cancer Prevention Research*. 2012. 5:522-527.

He, Z. Chen, Y.; Chen, P.; Wu, G.; Cai, S. Local inflammation occurs before systemic inflammation in patients with COPD. *Official Journal of The Asian Pacific Society of Respiratory*. 2010. 15:478-484.

Wain, L.; Artigas, M.; Tobin, M. What can genetics tell us about the cause of fixed airflow obstruction?. *Clinical and Experimental Allergy*. 2012. 42:1176-1182.

Schmidt, M.; Pletz, M.; de Roux, A.; Lode, H. Apoptosis of peripheral blood neutrophils in COPD exacerbation does not correlate with serum cytokines. *Respiratory Medicine*. 2006. 100:639-647.

Sapey, E. Stockey, R. The Neutrophil and Its Special Role in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Asthma and COPD: Basic Mechanisms and Clinical Management*. 2009. 173-191.

Culpitt, S.; Rogers, D.; Shah, P.; de Matos, C.; Russell, R.; Donnelly, L.; Barnes, P. Impaired Inhibition by Dexamethasone of Cytokine Release by Alveolar Macrophages from Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2002. 167:24-31.

Barnes, P. Cellular and Molecular Mechanisms of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Clinical Chest Med*. 2014. 32:71-86.

Kishimoto, T. The Biology of Interleukin-6. *Blood*. 1989. 74:1-10.

Ataie, P. Pourgholami, H.; Morris, D. Inhibition of the IL-6 signaling pathway: A strategy to combat chronic inflammatory diseases and cancer. *Cytokine and Growth Reviews*. 2013. 24:163-173.

Sánchez, P.; Sanz, M.; Prieto, M.; Reyes, M.; Alvarez, M.; García, M. Balance entre citocinas pro y antiinflamatorias en estados sépticos. *Medicina Intensiva*. 2005. 29(3):151:8.

Saavedra, G.; Vásquez, G.; González, L. Interleucina-6: ¿amiga o enemiga? Bases para comprender su utilidad como objetivo terapéutico. *Iatreia*. 24:157-166.

Checa, M. Polimorfismos genéticos: Importancia y aplicaciones. *Revista Instituto de Enfermedades Respiratorias Mexico*. 2007. 20(3):213-221.

Wyszynki, D. La epidemiología genética: disciplina científica en expansión. *Revista Panamericana de Salud Pública*. 1998. 3(1):26-34.

Terry, C.; Loukaci, V.; Green, F. Cooperative Influence of Genetic Polymorphisms on Interleukin 6 Transcriptional Regulation. *The Journal of Biological Chemistry*. 2000. 275,24:18138-18144.

Fedetz, M.; Matesanz, F.; Pascual, M.; Martín, J.; Fernández, O.; Guerrero M.; Alcina, A. The -174/-597 promoter polymorphisms in the interleukin-6 gene are not associated with susceptibility to multiple sclerosis. *Journal of Neurological Sciences*. 2001. 190:69-72.

Müller, M.; Ebel, B.; Härtel, C. The impact of interleukin-6 promoter -597/-572/-174 genotype on interleukin-6 production after lipopolysaccharide stimulation. *Clinical and Experimental Immunology*. 2006. 147:339-345.

Ramírez, G., Portilla, E., Sánchez, J., Salmerón, J., Mendoza, F., Interleukin-6 Polymorphisms Are Associated with Obesity and Hyperglycemia in Mexican Adolescents. *Archives of Medical Research*. 2013; 44:62-68.

Kang, J.; Kim, N.; Lee D.; Park, J.; Lee, J.; Kim, J.; Jung, H.; Song, I. The effects of genetic polymorphisms of IL-6, IL-8, and IL-10 on Helicobacter pylori-induced gastroduodenal diseases in Korea. *Journal of Clinical Gastroenterology*. 2009. 43(5):420-8.

Zavaleta, S.; Márquez, B.; Gonzalez, I.; Gonzalez, N.; Díaz, M.; Ponce, J.; Ruiz, A.; Vázquez, M.; Fafutis, M.; Flores, S. Martínez, E.; Gamez, J. The -174G/C and -572G/C Interleukin 6 Promoter Gene Polymorphisms in Mexican Patients with Rheumatoid Arthritis: A Case-Control Study. *Clinical and Developmental Immunology*. 2013. 1-5.

Scapoli, C.; Mamolini, E.; Carrieri, A.; Guarnelli, M.; Annuziata, M.; Guida, L.; Romano F.; Aimetti, M.; Trombelli, L. Gene-gene interaction among cytokine polymorphisms influence susceptibility to aggressive periodontitis. *Genes and Immunity*. 2011. 12:473-480.

Aggarwal, S.; Rupali, S., Srivastava, A.; Kalaiarasan, P.; Malhotra, D.; Gochhait, S., Garg, V., Bhattacharya, S.; Bamezai, N. Genetic Variations and Interactions in Anti-inflammatory Cytokine Pathway Genes in the Outcome of Leprosy: A Study Conducted on a MassARRAY Platform. *Journal of infectious diseases*. 2011. 204:1264-1273.

Murray, C.; López, A. Alternative projections of mortality and disability by cause 1990–2020: Global Burden of Disease Study. *The Lancet*. 1997. 349:1498-1504.

Mendoza, F.; Ramírez, G.; Ayala, N.; García, A.; Flores, S.; Sánchez, J. Influence of CRP, IL6, and TNFA Gene Polymorphisms on Circulating Levels of C-Reactive Protein in Mexican Adolescents. *Archives of Medical Research*. 2010. 41:472-477.

Ramírez, G.; Portilla, E.; Sánchez, J.; Salmeron, J.; Mendoza, F. Interleukin-6 Polymorphisms Are Associated with Obesity and Hyperglycemia in Mexican Adolescents. *Archives of Medical Research*. 2013. 44:62-68.

Brull, D.; Leeson, C.; Montgomery, H.; Mullen, M.; Humphries, S. Deanfield, J. The effect of the Interleukin-6-174G > C promoter gene polymorphism on endothelial function in healthy volunteers. *European Journal of Clinical Investigation*. 2002. 32(3):153-7.

Rivera, F.; Peters, D.; Barber, C., Grant, E. Interleukin-6 promoter haplotypes and interleukin-6 cytokine responses. *Shock*. 2003. 20(3):218-223.

Córdoba, E.; de Torres, J.; López, C.; Rodríguez, M.; Maca, N.; Montejo, A.; Aguirre, A.; Pérez, L.; Casanova, L. Association of IL-6 gene polymorphisms and COPD in a Spanish Population. *Respiratory Medicine*. 2008. 102:1805-1811.

Jerrard, D.; Sitzer, M.; Risley, P.; Buehler, A., Von Kegler, S.; Markus, H. Inflammatory Gene Load Is Associated With Enhanced Inflammation and Early Carotid Atherosclerosis in Smokers. *Stroke*. 2004. 35(11):2438-43.

Kyung-Kyun, S., Yangsoo, J., Soo, J.K., Jey, S.C., Oh, Y.K., Sungha, P., Donghoon, C., Dong-Jik, S., Hyae, J.K., Jong, H.L. Influence of the IL-6 -572C > G polymorphism on inflammatory markers according to cigarette smoking in Korean healthy men. *Cytokine*. 2007; 39:116-122.

Cooper, D.; Krawczak, M.; Polychronakos, C.; Tyler-Smith, C.; Kehrer, H. Where genotype is not predictive of phenotype: towards an understanding of the molecular basis of reduced penetrance in human inherited disease. *Human Genetics*. 2013; 132:1077-1130.

Orozco, M.; García, J.; Villar, J.; Ramírez, A. Wood smoke exposure and risk of chronic obstructive pulmonary disease. *European Respiratory*. 2006. 27:542-546.

De Torres, J.; Casanova, C.; Pinto, V.; Varo, N.; Restituto, P.; Córdoba, E.; Baz, R.; Aguirre, A.; Celli, B. Gender Differences in Plasma Biomarker Levels in a Cohort of COPD Patients: A Pilot Study. *PLoS ONE*. 2011. 6:e16021.

Ferrari, R.; Tanni, S.; Caram, L.; Correa, C.; Correa, C.; Godoy, I. Three-year follow-up of Interleukin 6 and C-reactive protein in chronic obstructive pulmonary disease. *Respiratory Research*. 2013. 14:1-7.

Díaz, E.; Mannino, D. Epidemiology and Prevalence of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Clinical Chest Medical*. 2014. 35:7-16.

Van Winkle, L. Gunderson, A.; Shimizu, J.; Baker, G.; Brown, C. Gender differences in naphthalene metabolism and naphthalene-induced acute lung injury. *American Journal of Physiology Lung and Cell Molecular Physiology*. 2002. 282:L1122-L1134.

Aryal, S.; Díaz, E.; Mannino, M. COPD and gender differences: an update. *Translational Research*. 2013. 162(4):208-218.

Silva, R.; Oyarzún, M.; Olloquequi, J. Mecanismos patogénicos en la enfermedad pulmonar obstructiva crónica causada por exposición a humo de biomasa. *Archivos de Bronconeumología*. 2015. 1-8.

Guarnieri, M., Díaz, J.; Basu, Chandreyi.; Díaz, Anaite.; Pope, D.; Smith, K.; Smith, T.; Bruce, N.; Solomon, C.; McCracken, J.; Balmes, J. Effects of Woodsmoke Exposure on Airway Inflammation in rural Guatemalan women. *Plos ONE*. 2012. 9(3):e88455.

Bonafè, M.; Olivieri, F.; Cavallone, L.; Giovagnetti, S.; Marchegiani, F.; Cardelli, M.; Pieri, C.; Marra, M.; Antonicelli, R.; Lisa, R.; Rizzo, M.; Paolisso, G.; Monti, D.; Franceschi, C. A gender-dependent genetic predisposition to produce high levels of IL-6 is detrimental for longevity. *European Journal of Immunology*. 2001. 31:2357-2361.

Sharma, G.; Hanania, N.; Shim, Y. The Aging Immune System and Its Relationship to the Development of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Proceedings of American Thoracic Society*. 2009. 6:573-580.

Chen, J.; Reng, L.; Yang, L. A two-SNP IL-6 promoter haplotype is associated with increased lung cancer risk. *Journal of Respiratory and Clinical Oncology*. 2013. 139:231-242.

Syamlal, G.; Mazurek, J.; Dube, S. Gender differences in smoking among U.S working adults. *American Journal of Preventive Medicine*. 2014. 47(4):467-75.

