

# Polimorfismo de genes de citocinas: ¿factores de riesgo cardiovascular en la población venezolana?

## *Polymorphism of cytokine genes: cardiovascular risk factors in the Venezuelan population?*

Mercedes Fernández-Mestre<sup>1\*</sup>, Eva Salazar-Alcalá<sup>1</sup>, Gelly Matos-González<sup>2</sup> e Ingrid Márquez<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Sección Inmunogenética, Laboratorio de Fisiopatología, Centro de Medicina Experimental Miguel Layrisse, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas; <sup>2</sup>Unidad de Cardiología, Hospital General del Este Dr. Domingo Luciani. Caracas, Venezuela

### Resumen

**Objetivo:** Examinar si los polimorfismos de los genes IL6, TNFA e IL10 representan un marcador de riesgo de infarto agudo de miocardio (IAM) y analizar su correlación con los factores de riesgo, la edad de ocurrencia y el tipo de IAM. **Método:** Estudio de asociación que incluyó 310 individuos venezolanos, no relacionados, agrupados en 190 pacientes con IAM y 120 controles con o sin factores de riesgo cardiovascular. Los polimorfismos IL6-174 G/C (rs1800795), TNFA-308 G/A (rs1800629) e IL10-1082 A/G (rs1800896), -819 C/T (rs1800871) y -592 C/A (rs1800872) se determinaron utilizando la técnica reacción en cadena de la polimerasa con iniciadores de secuencias específicas. **Resultados:** La comparación de frecuencias genotípicas y alélicas, mediante el análisis de regresión logística ajustado para los factores de riesgo, mostró una frecuencia significativamente incrementada de la combinación de genotipos G/G-A/A de la variante TNFA-308 G/A (odds ratio [OR]: 3.8;  $p = 0.00007$ ), GG-C/C de la variante IL6-174 G/C (OR: 2.3;  $p = 0.009$ ), A/G-G/G de la variante IL10-1082 A/G (OR: 3.8;  $p = 0.00001$ ) y del haplotipo GCC de IL10 (OR: 3.71;  $p = 0.0053$ ) en los pacientes con IAM con respecto a los controles. Se observaron interacciones entre los polimorfismos IL10-1082 A/G y TNFA-308 G/A e hipertensión. **Conclusiones:** La asociación de las variantes de los genes TNFA, IL6 e IL10 con IAM sugiere que el desbalance en la producción de citocinas promueve un proceso inflamatorio exacerbado, apoyando el papel fundamental de la inflamación en todas las etapas del proceso aterosclerótico.

**Palabras clave:** Polimorfismo. Citocinas. Infarto agudo de miocardio. Síndrome coronario agudo.

### Abstract

**Objective:** To examine whether the polymorphisms of the IL6, TNFA and IL10 genes represent a risk marker for acute myocardial infarction (AMI) and to analyze their correlation with risk factors, age of occurrence and type of AMI. **Method:** Association study that included 310 unrelated Venezuelan individuals, grouped in 190 patients with AMI and 120 controls with or without cardiovascular risk factors. The IL6-174 G/C (rs1800795), TNFA -308 G/A (rs1800629), and IL10-1082 A/G (rs1800896), -819 C/T (rs1800871) and -592 C/A (rs1800872) polymorphisms were determined using the polymerase chain reaction technique with sequence-specific primers. **Results:** Comparison of genotypic and allelic frequencies, using adjusted logistic

### Correspondencia:

\*Mercedes Fernández-Mestre  
E-mail: mfernandezmestre@gmail.com,  
mfernand@ivic.gob.ve

Fecha de recepción: 03-07-2020  
Fecha de aceptación: 20-08-2020  
DOI: 10.24875/ACM.200003301

Disponible en internet: 02-07-2021  
Arch Cardiol Mex. 2021;91(3):281-288  
www.archivoscardiologia.com

1405-9940 / © 2020 Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez. Publicado por Permanyer. Este es un artículo *open access* bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

regression analysis for risk factors, showed a significantly increased frequency of the genotype combination G/G-A/A of TNFA-308 G/A (odds ratio [OR]: 3.8;  $p = 0.00007$ ), GG/-C/C of IL6-174 G/C (OR: 2.3;  $p = 0.009$ ), A/G-G/G of IL10-1082 A/G (OR: 3.8;  $p = 0.00001$ ) and the GCC haplotype of IL10 (OR: 3.71;  $p = 0.0053$ ) in infarcted patients compared to controls. Interactions between the IL10-1082 A/G and TNFA-308 G/A polymorphisms and hypertension were observed. **Conclusions:** The association of the variants of the TNFA, IL6 and IL10 genes with AMI suggest that the imbalance in the production of cytokines promotes an exacerbated inflammatory process, supporting the fundamental role of inflammation in all stages of the atherosclerotic process.

**Key words:** Polymorphism. Cytokines. Acute myocardial infarction. Acute coronary syndrome.

## Introducción

El infarto agudo de miocardio (IAM) es causado por la interacción de factores ambientales y genéticos<sup>1</sup>. De hecho, la incidencia de IAM se incrementa aditivamente en función del número de factores de riesgo cardiovascular (FRCV) convencionales, como la hipertensión arterial, la diabetes *mellitus* y la hipercolesterolemia. Si bien cada FRCV en sí mismo está parcialmente bajo control genético, varios estudios sugieren la existencia de genes de susceptibilidad adicionales en el desarrollo del infarto<sup>2</sup>. Muchos estudios epidemiológicos han sugerido que diversas variantes genéticas incrementan el riesgo de IAM. En virtud de ello, el principal objetivo de las investigaciones genéticas es proporcionar una evaluación del riesgo completa, adicionado a los factores de riesgo clínico y bioquímico tradicionales. Existe evidencia creciente de que la inflamación tiene un papel central en la génesis de la aterosclerosis, principal mecanismo etiopatogénico del IAM<sup>3</sup>. La inflamación parece estar involucrada en todas las etapas del desarrollo aterosclerótico, incluyendo el daño oxidativo, la proliferación celular y la evolución y desestabilización de la placa de ateroma. No obstante, a pesar de la evidencia que implica que un grupo de marcadores están relacionados con la inflamación y el IAM, las interacciones con factores ambientales y los mecanismos involucrados son pobremente entendidos<sup>4,5</sup>. Mientras que la inflamación en la pared vascular puede ser consecuencia de algunos factores ambientales (infecciones bacterianas o virales, daño tisular, hábitos alimenticios, etc.), es posible que los factores genéticos puedan contribuir con una respuesta inflamatoria alterada o exacerbada. Los estudios en personas mayores han demostrado que algunas citocinas inflamatorias, como la interleucina 6 (IL-6) y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), predicen el resultado cardiovascular<sup>2</sup>. Además, la variabilidad de estos genes inflamatorios puede influir en la longevidad de los humanos, al afectar las respuestas inflamatorias asociadas a enfermedades relacionadas con la edad, como la enfermedad arterial coronaria<sup>6</sup>. Es importante

señalar que las variantes genéticas, a diferencia de los marcadores bioquímicos, son menos influenciadas por factores ambientales, por lo que constituyen un mejor marcador individual de susceptibilidad al IAM, en particular con antecedentes familiares<sup>7</sup>. Otra citocina importante en la enfermedad arterial coronaria y que tiene actividad antiinflamatoria es la interleucina 10 (IL-10), la cual es capaz de inhibir la adhesión de las lipoproteínas de baja densidad al endotelio y regular negativamente la biosíntesis de fibrinógeno. Se ha descrito que la concentración de IL-10 disminuye en el suero de pacientes con síndrome coronario agudo (SCA) y está inversamente relacionada con futuros eventos en pacientes con IAM, lo que sugiere un importante papel antiinflamatorio que compensa las respuestas proinflamatorias<sup>2</sup>. Fundamentados en que los polimorfismos localizados en la región promotora de los genes de citocinas determinan sus concentraciones y afectan el proceso inflamatorio involucrado en la génesis de la aterosclerosis, en el presente trabajo examinamos si los polimorfismos de los genes *IL6*, *TNFA* e *IL10* representan un marcador de riesgo de IAM en la población mestiza venezolana. Asimismo, se analiza la posible correlación de estos polimorfismos con los factores de riesgo tradicionales, la edad de ocurrencia y el tipo de IAM.

## Método

Se realizó un estudio retrospectivo y de asociación de casos y controles, que incluyó 310 individuos venezolanos, no relacionados, clasificados en dos grupos: – Pacientes (n =190): individuos con diagnóstico de IAM determinado por hallazgos clínicos, paraclínicos y electrocardiográficos, que acudieron a la unidad de cuidados coronarios y la unidad de estudios especiales del servicio de cardiología del Hospital General del Este Dr. Domingo Luciani, Caracas, Venezuela. Basándose en el electrocardiograma de ingreso y en las características clínicas de los pacientes con IAM, el SCA se clasificó en SCA sin elevación del

segmento ST (SCASEST) y SCA con elevación del segmento ST (SCACEST).

- Controles (n = 120): individuos aparentemente sanos con o sin FRCV.

Las muestras de ambos grupos fueron colectadas durante el periodo comprendido entre marzo de 2010 y noviembre de 2013. Una vez obtenidas todas las muestras, se realizó la genotipificación de los polimorfismos de genes de citocinas.

En ambos grupos se excluyeron los individuos con antecedentes de enfermedades hepáticas, autoinmunitarias, neoplásicas o IAM secundario a otras causas. Todas las personas participantes firmaron un consentimiento aprobado por el Comité de Bioética del Hospital General del Este Dr. Domingo Luciani, Caracas, Venezuela. (oficio No. 00211).

Para la determinación de los polimorfismos, el ADN genómico fue extraído de los leucocitos y linfocitos de sangre periférica utilizando el protocolo de Bunce<sup>8</sup>. Los polimorfismos de los genes *IL6*, *TNFA* e *IL10* se determinaron mediante la técnica reacción en cadena de la polimerasa (PCR) con iniciadores de secuencias específicas. Las variantes *IL6-174 G/C* (rs1800795), *TNFA-308 G/A* (rs1800629) e *IL10-1082 A/G* (rs1800896), *-819 C/T* (rs1800871) y *-592 C/A* (rs1800872) se determinaron empleando los iniciadores descritos por Ambruzova, et al.<sup>9</sup>, Verjans, et al.<sup>10</sup> y Kingkeow, et al.<sup>11</sup>, respectivamente. Para cada uno de los polimorfismos se prepararon dos mezclas de reacción, una para el alelo ancestral o silvestre (-308 G, -174 G, -1082G, -819 C y -592 C, respectivamente) y otra para el alelo mutado o poco frecuente (-308 A, -174 C, -1082 A, -819 T y -592 A, respectivamente). En todas las reacciones se incluyeron, como control interno de la PCR, los iniciadores del grupo sanguíneo ABO descritos por Olsson, et al.<sup>12</sup>.

Las frecuencias alélicas y genotípicas se calcularon por conteo directo. La fuerza de asociación se determinó mediante la *odds ratio* (OR), con el correspondiente intervalo de confianza del 95% (IC 95%). La significancia estadística de las diferencias de frecuencias (genotipos, haplotipos) entre los grupos fue estimada por la prueba de ji al cuadrado, usando tablas de contingencia 2 × 2. Los valores de p se consideraron significativos cuando eran < 0.05. La determinación del equilibrio de Hardy-Weinberg de los haplotipos de los polimorfismos de la región promotora del gen del *IL10* (-1082, -819, -592), los modelos de herencia y la interacción con los FRCV fueron determinados utilizando la herramienta SNPStats<sup>13</sup>. Las correlaciones entre los polimorfismos estudiados, los FRCV tradicionales, la ocurrencia y el tipo de IAM se realizaron utilizando el paquete estadístico SPSS Statistic versión 20<sup>14</sup>.

**Tabla 1.** Características demográficas y clínicas de los pacientes con IAM y de individuos aparentemente sanos (controles)

|                           | Pacientes con IAM (n = 190) | Controles (n = 120) | p         |
|---------------------------|-----------------------------|---------------------|-----------|
| Sexo                      |                             |                     |           |
| Femenino                  | 33.7 (64)                   | 45.8 (55)           | 0.016     |
| Masculino                 | 66.3 (126)                  | 54.2 (65)           |           |
| Rango de edad (años)      | 34-90                       | 33-83               |           |
| Edad promedio ± DE (años) | 61.05 ± 12.25               | 52.14 ± 10.34       | < 0.00001 |
| FRCV presentes            |                             |                     |           |
| Hipertensión arterial     | 70.5 (134)                  | 27.5 (33)           | < 0.00001 |
| Diabetes <i>mellitus</i>  | 20.5 (39)                   | 15.0 (18)           | NS        |
| Tabaquismo                | 41.1 (78)                   | 10.8 (13)           | < 0.00001 |
| Obesidad                  | 70.5 (134)                  | 28.3 (34)           | < 0.00001 |
| Sedentarismo              | 23.7 (45)                   | 24.2 (29)           | ns        |
| Presentación clínica      |                             |                     |           |
| SCASEST                   | 37.9 (72)                   | -                   | -         |
| SCACEST                   | 62.1 (118)                  | -                   | -         |

DE: desviación estándar; FRCV: factores de riesgo cardiovascular; IAM: infarto agudo de miocardio; NS: no significativo ( $p \geq 0.05$ ); SCACEST: síndrome coronario agudo con elevación del segmento ST; SCASEST: síndrome coronario agudo sin elevación del segmento ST. Las frecuencias están expresadas en porcentajes, y entre paréntesis se indica el número de individuos.

## Resultados

De los 190 pacientes incluidos, el 33.7% eran mujeres y el 66.3% eran hombres, con un rango de edad comprendido entre 34 y 90 años (promedio de  $54 \pm 12.26$  años). Con respecto a los 120 controles, el 45.8% eran mujeres y el 54.2% eran hombres, con un rango de edad comprendido entre 33 y 83 años (promedio de  $47.5 \pm 2.12$  años). En cuanto a la presentación clínica del infarto, el 37.9% de los pacientes se clasificaron clínicamente como SCASEST y el 62.1% como SCACEST. Al establecer comparaciones entre los grupos observamos en el grupo de pacientes una frecuencia significativamente incrementada de hombres (OR: 1.66; IC 95%: 1.04-2.66;  $p = 0.016$ ), hipertensión (OR: 6.3; IC 95%: 3.79-10.48;  $p < 0.00001$ ), obesidad (OR: 6.1; IC 95%: 3.65-10.03;  $p < 0.00001$ ) y hábito tabáquico (OR: 5.7; IC 95%: 3.01-10.91;  $p < 0.00001$ ), así como un mayor promedio de edad (IC 95%: 6.26-11.57;  $p < 0.00001$ ), con respecto a los controles (Tabla 1).

Utilizando el programa SNPStats se confirmó la existencia de equilibrio de Hardy-Weinberg para la distribución genotípica de los polimorfismos estudiados. Conjuntamente, se determinó el modelo de herencia de cada uno de los polimorfismos, estableciéndose como modelo de herencia más ajustado aquel que

**Tabla 2.** Asociación de los polimorfismos de los genes *TNF*, *IL-6* e *IL10* con el desarrollo de infarto agudo de miocardio, la edad de ocurrencia y el tipo de síndrome coronario agudo

| Polimorfismos                      | Genotipo        | Pacientes IAM (n = 174)  | Controles (n = 68)      | OR (IC 95%)     | p       |
|------------------------------------|-----------------|--------------------------|-------------------------|-----------------|---------|
| <i>TNF-308 G/A</i> sobredominante  | G/G-A/A vs. G/A | 90.2 (157) vs. 9.8 (17)  | 70.6 (48) vs. 29.4 (20) | 3.8 (1.87-7.93) | 0.00007 |
| <i>IL6-174 G/C</i> codominante     | C/C+GG vs. G/C  | 86.2 (150) vs. 13.8 (24) | 73.5 (50) vs. 26.5 (18) | 2.3 (1.13-4.48) | 0.009   |
| <i>IL10-1082 A/G</i> dominante     | A/G-G/G vs. AA  | 54.0 (94) vs. 46.0 (80)  | 23.5 (16) vs. 76.5 (52) | 3.8 (2.02-7.20) | 0.00001 |
| <i>IL10-819 C/T</i> dominante      | C/T-T/T vs. C/C | 47.1 (82) vs. 52.9 (92)  | 48.5 (33) vs. 51.5 (35) | 0.9 (0.54-1.66) | 0.9     |
| <i>IL10-592 C/A</i> sobredominante | C/C-A/A vs. A/C | 62.6 (109) vs. 37.4 (65) | 57.4 (39) vs. 42.6 (29) | 1.2 (0.70-2.21) | 0.22    |
| Polimorfismos                      | Genotipo        | IAM a edad ≤ 55 años     | IAM a edad ≥ 56 años    | OR (IC 95%)     | p       |
| <i>TNF-308 G/A</i> sobredominante  | G/G-A/A vs. G/A | 89.6 (60) vs. 10.4 (7)   | 90.7 (97) vs. 9.3 (10)  | 0.9 (0.32-2.45) | 0.4     |
| <i>IL6-174 G/C</i> codominante     | C/C+GG vs. G/C  | 86.6 (58) vs. 13.4 (9)   | 86.0 (92) vs. 14.0 (15) | 1 (0.43-2.56)   | 0.45    |
| <i>IL10-1082 A/G</i> dominante     | A/G-G/G vs. AA  | 53.7 (36) vs. 46.3 (31)  | 54.2 (58) vs. 45.8 (49) | 0.9 (0.53-1.81) | 0.47    |
| <i>IL10-819 C/T</i> dominante      | C/T-T/T vs. C/C | 47.8 (32) vs. 52.2 (35)  | 46.7 (50) vs. 53.3 (57) | 1 (0.56-1.92)   | 0.44    |
| <i>IL10-592 C/A</i> sobredominante | C/C-A/A vs. A/C | 61.2 (41) vs. 38.8 (26)  | 63.5 (68) vs. 36.5 (39) | 0.9 (0.48-1.69) | 0.37    |
| Polimorfismos                      | Genotipo        | SCACEST (n = 110)        | SCASEST (n = 64)        | OR (IC 95%)     | p       |
| <i>TNF-308 G/A</i> sobredominante  | G/G-A/A vs. G/A | 89.1 (98) vs. 10.9 (12)  | 92.2 (59) vs. 7.8 (5)   | 0.7 (0.22-2.06) | 0.25    |
| <i>IL6-174 G/C</i> codominante     | C/C+GG vs. G/C  | 85.5 (94) vs. 14.5 (16)  | 87.5 (56) vs. 12.5 (8)  | 0.8 (0.34-2.09) | 0.35    |
| <i>IL10-1082 A/G</i> dominante     | A/G-G/G vs. AA  | 53.6 (59) vs. 46.4 (51)  | 54.7 (35) vs. 45.3 (29) | 0.9 (0.52-1.78) | 0.45    |
| <i>IL10-819 C/T</i> dominante      | C/T-T/T vs. C/C | 43.6 (48) vs. 56.4 (62)  | 53.1 (34) vs. 46.9 (30) | 0.7 (0.37-1.27) | 0.11    |
| <i>IL10-592 C/A</i> sobredominante | C/C-A/A vs. A/C | 63.6 (70) vs. 36.4 (40)  | 60.9 (39) vs. 39.1 (25) | 1 (0.59-2.12)   | 0.36    |

IAM: infarto agudo de miocardio; IC 95%: intervalo de confianza del 95%; OR: *odds ratio*; SCACEST: síndrome coronario agudo con elevación del segmento ST; SCASEST: síndrome coronario agudo sin elevación del segmento ST.

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

presentaba el valor de probabilidad (p) más bajo, siendo el modelo de herencia sobredominante el más ajustado para las variantes *TNFA-308 G/A* e *IL10-592 C/A*, codominante para la variante *IL6-174 G/C* y dominante para las variantes *IL10-1082 A/G* e *IL10-819 C/T*. Al realizar la comparación de frecuencias genotípicas entre pacientes y controles, considerando el modelo de herencia de cada variante y mediante el análisis de regresión logística ajustado por sexo, edad, hipertensión arterial, hábito tabáquico, obesidad, dislipidemia, diabetes y sedentarismo, observamos en los pacientes con IAM una frecuencia significativamente incrementada de la combinación de genotipos G/G-A/A de la variante *TNFA-308 G/A* (90.2 vs. 70.6%; OR: 3.8; IC 95%: 1.87-7.93; p = 0.00007), GG/-C/C de la variante *IL6-174 G/C* (86.2 vs. 73.5%; OR: 2.3; IC 95%: 1.13-4.48; p = 0.009) y A/G-G/G de la variante *IL10-1082 A/G* (54 vs. 23.5%; OR: 3.8; IC 95%: 2.02-7.20; p = 0.00001) con respecto a los controles. Por otra parte, al

comparar las frecuencias de los genotipos de cada variante entre los pacientes que sufrieron IAM con edades ≥ 56 años y los pacientes que lo sufrieron con edades ≤ 55 años, y entre pacientes con SCACEST y con SCASEST, no se observaron diferencias significativas (Tabla 2).

Al realizar el análisis de haplotipos formados por las variantes *IL10-1082*, *-819 C/T* y *-592 C/A* se observaron ocho haplotipos en los pacientes y siete haplotipos en los controles, presentando el haplotipo formado por los alelos silvestre (ACC) la mayor frecuencia en ambos grupos. En contraste, el haplotipo formado por los alelos mutados (GTC) solo estaba presente en los pacientes. El análisis de asociación entre los haplotipos *IL10* y el IAM mediante regresión logística ajustando por los FRCV mostró una frecuencia significativamente incrementada del haplotipo GCC en los pacientes con respecto a los controles (27.5 vs. 16.0%; OR: 3.71; IC 95%: 1.49 - 9.26; p = 0.0053). Sin embargo, al comparar las

frecuencias de los haplotipos entre los pacientes que sufrieron IAM con edades  $\geq 56$  años y los que los sufrieron con edades  $\leq 55$  años, y entre pacientes con SCACEST y con SCASEST, no se observaron diferencias significativas. Finalmente, el análisis de interacción, entre pacientes y controles, de los polimorfismos de los genes de citocinas con los FRCV mostró la interacción del polimorfismo *IL10-1082 A/G* con la hipertensión ( $p$  de interacción = 0.015). Conjuntamente, el análisis de interacción entre pacientes que sufrieron IAM con edades  $\leq 55$  años y pacientes que lo sufrieron con edades  $\geq 56$  años mostró la interacción del polimorfismo *TNFA-308 G/A* y la hipertensión ( $p$  de interacción = 0.019).

## Discusión

El IAM es una enfermedad multifactorial y con frecuencia está causado por una placa inestable de las arterias coronarias epicárdicas, donde los procesos inflamatorios desempeñan un papel central. En este sentido, varias moléculas proinflamatorias en circulación han sido asociadas con eventos cardiovasculares trombóticos, incluyendo proteínas de fase aguda, moléculas de adhesión celular y citocinas<sup>15</sup>. Los estudios han demostrado que las citocinas proinflamatorias, como el  $TNF-\alpha$ , la *IL-1* y la *IL-6* tienen una función importante en el desarrollo de la placa aterosclerótica y, en consecuencia, en el desarrollo de la enfermedad arterial coronaria. Asimismo, distintos estudios han demostrado que la *IL-10* es crucial en la regulación de la inflamación. Esta citocina es un inhibidor importante de la síntesis de citocinas proinflamatorias y se ha detectado dentro de las placas ateroscleróticas humanas, asociándose sus altas concentraciones con una disminución significativa de la muerte celular y la expresión de la enzima óxido nítrico sintasa inducible<sup>16</sup>. Dada la importancia de las citocinas en la patogenia de la enfermedad, se planteó estudiar si los polimorfismos de los genes *TNFA*, *IL6* e *IL10* representan un marcador de riesgo de IAM en la población mestiza venezolana, y analizar su correlación con los factores de riesgo, la edad de ocurrencia y el tipo de IAM.

En el presente estudio se observó una frecuencia significativamente incrementada de la combinación de genotipos G/G-A/A de la variante *TNFA-308* y GG/C/C de la variante *IL6-174* en los pacientes con respecto a los controles. Los estudios funcionales han demostrado que el alelo silvestre G de la variante *TNFA-308* y el alelo silvestre G de la variante *IL6-174*

están correlacionados con una baja producción de  $TNF-\alpha$  y una alta producción de *IL-6*, respectivamente. En contraste, el alelo mutado A de la variante *TNFA-308* y el alelo mutado C de la variante *IL6-174* están correlacionados con una alta producción de  $TNF-\alpha$  y una baja producción de *IL-6*, respectivamente. Estas citocinas proinflamatorias desempeñan un papel importante en la regulación de la síntesis de proteínas de fase aguda, tales como el fibrinógeno y el factor VIII, que son factores de riesgo de aterosclerosis<sup>15</sup>. Por lo tanto, una desregulación en la producción de estas citocinas pudiese estar confiriendo riesgo de desarrollar IAM. Por otra parte, los resultados sugieren la ventaja del genotipo heterocigoto, observándose en los individuos controles una frecuencia incrementada de los genotipos heterocigotos G/A y G/C de los polimorfismos *TNFA-308* e *IL6-174*, respectivamente. Ambos genotipos estarían asociados con producciones moderadas de estas citocinas, confiriendo protección frente al desarrollo de IAM. Diferentes estudios han descrito que los pacientes con SCA presentan concentraciones incrementadas de *IL-6*<sup>17-21</sup> y  $TNF$ <sup>22-27</sup>. La producción incrementada de *IL-6* puede estar promoviendo la aterogénesis, contribuyendo al riesgo de IAM, o puede ser el resultado de la aterosclerosis, asociada con fuertes reacciones inflamatorias<sup>28</sup>. Simultáneamente, la *IL-6* regula la respuesta de fase aguda, constituyendo un activador importante en la producción de proteína C reactiva, que es una proteína de fase aguda cuyas concentraciones predicen el riesgo de desarrollar IAM. De hecho, se ha descrito un incremento de las concentraciones de *IL-6* y de proteína C reactiva en pacientes con enfermedad cardiovascular, llegando a establecer la relación entre la *IL-6*, la proteína C reactiva y la necrosis miocárdica o tamaño del infarto, confirmando la conexión entre este y la inflamación<sup>29,30</sup>. Conjuntamente, los estudios en pacientes con SCA sugieren que la *IL-6* se asocia con lesión miocárdica por isquemia-reperusión y mortalidad<sup>30</sup>. Por otra parte, el  $TNF-\alpha$ , producido por las células endoteliales, las células de músculo liso y los macrófagos asociados con ateroma coronario, ha sido involucrado en varios procesos cardiovasculares y es sobreexpresado en el miocardio en respuesta a la isquemia miocárdica transitoria y la reperusión. Además, se ha hipotetizado que su sobreexpresión persistente, después de la isquemia, podría conducir a resultados coronarios adversos, y se ha sugerido que las concentraciones de  $TNF-\alpha$  aumentan agudamente con la isquemia coronaria<sup>24</sup>. Además, esta citocina induce en las células endoteliales la secreción

de sustancias vasoactivas, que producen vasorelajación o vasoconstricción, y en consecuencia influyen en la regulación de la presión arterial, observándose en el suero de los pacientes hipertensos altas concentraciones de TNF- $\alpha$  con respecto a los individuos normotensos<sup>31</sup>, lo que explicaría la interacción del polimorfismo *TNF-308* y la hipertensión en los pacientes con IAM. En relación con los polimorfismos del gen *IL10*, se observó una frecuencia significativamente incrementada de la combinación de genotipos A/G-G/G de la variante *IL10-1082* y del haplotipo *IL10* GCC en los pacientes con respecto a los controles. Tres de los polimorfismos más importantes del gen *IL10* (-1082, -819 y -592) generan tres haplotipos frecuentes, GCC, ACC y ATA, que determinan una expresión alta, intermedia y baja del gen, afectando así las concentraciones de esta citocina<sup>32</sup>. Específicamente, el alelo G en la posición -1082 y los haplotipos que contienen este alelo han sido asociados con una alta producción de IL-10, mientras que el alelo A y los haplotipos que contienen este alelo se han asociado con una baja producción de esta citocina<sup>33</sup>. En la presente investigación se observó en los pacientes una frecuencia significativamente incrementada de la combinación de genotipos A/G-G/G y del haplotipo GCC, los cuales se han asociado con una alta expresión de IL-10. Estos resultados concuerdan con lo descrito en la literatura, tal como muestra un metaanálisis de 12 estudios elegibles, en el cual se describió una asociación entre altas concentraciones de IL-10 y eventos adversos en pacientes con SCA<sup>34</sup>. Además, Mälarstig, et al.<sup>35</sup> demostraron que los pacientes con SCA tenían mayores concentraciones de IL-10 plasmática que los individuos sanos, y que dicha elevación en admisión estaba asociada con el número de FRCV, concluyendo que la IL-10 refleja un estado proinflamatorio en pacientes con SCA y sugiriendo que la IL-10 es un biomarcador tan eficaz para la predicción del riesgo de futuros eventos cardiovasculares como otros marcadores de inflamación sistémica. Esto estaría en concordancia con la interacción observada entre el polimorfismo *IL10-1082* y la hipertensión. A pesar de la plausibilidad biológica de la IL-10 como una citocina cardioprotectora, unas elevadas concentraciones plasmáticas podrían ser un predictor, fuerte e independiente, de los resultados cardiovasculares adversos a largo plazo en los pacientes con SCA<sup>36,37</sup>. Una posible explicación es que numerosas citocinas tienen propiedades tanto proinflamatorias como antiinflamatorias, dependiendo dichas propiedades de las células diana, de la cantidad de citocinas y de la vía de señalización activada<sup>34</sup>.

Otra explicación es que el aumento de las concentraciones de IL-10 en los pacientes con enfermedad cardiovascular pudiese ser una respuesta compensatoria contra la elevación de mediadores proinflamatorios y la lesión vascular<sup>36</sup>. De hecho, un estudio realizado en una cohorte pequeña de pacientes con IAM mostró que la producción espontánea de IL-10 por leucocitos en cultivos, obtenidos de pacientes con IAM, pero no las concentraciones incrementadas de IL-10 plasmática, predice un remodelado cardiaco más favorable después del IAM con el elevación del segmento ST, lo que sugiere que la asociación entre altas concentraciones plasmáticas de IL-10 y eventos cardiacos recurrentes, remodelación adversa o falla cardiaca pudiese ser espuria<sup>38</sup>. Asimismo, los estudios realizados en modelos animales han demostrado la importancia de la IL-10 en el remodelado cardiaco después del infarto. En la terapia de la isquemia cardiaca mürida con células madre, la deficiencia de IL-10 en el miocardio isquémico afecta la supervivencia y la función de los exosomas derivados de la célula progenitora endotelial originada de medula ósea, mientras que el tratamiento con IL-10 mejora la remodelación y la función cardiaca, y disminuye la fibrosis<sup>39</sup>. Por otra parte, el tejido adiposo pericárdico de los ratones se encuentra enriquecido con células B productoras de IL-10, las cuales facilitan la terminación de la inflamación inducida por el infarto, impactan en el balance entre monocitos proinflamatorios y antiinflamatorios después del infarto y reducen el daño del miocardio, para preservar la función cardiaca después del infarto<sup>40</sup>. Consecuentemente, estos resultados sugieren que el uso de IL-10 recombinante pudiese ser oportuno para la prevención del remodelado cardiaco adverso en pacientes con IAM con elevación del segmento ST<sup>39</sup>, y las células B productoras de IL-10 en el tejido adiposo pericárdico podrían constituir una diana terapéutica para mejorar el resultado del IAM<sup>40</sup>.

Por lo tanto, los polimorfismos del gen *IL10* pueden tener un papel importante en la patogénesis del IAM, apoyando que la IL-10 sería un biomarcador pronóstico del remodelado cardiaco tras el IAM.

## Conclusiones

Los resultados del presente estudio, basados en las variantes de los genes *TNFA*, *IL6* e *IL10* asociadas con riesgo de desarrollar IAM, sugieren la existencia de un desbalance en la producción de citocinas, promoviendo un proceso inflamatorio exacerbado, lo que apoya el papel fundamental de la inflamación en todas las

etapas del proceso aterosclerótico, desde su iniciación hasta la progresión de sus complicaciones.

## Financiamiento

La presente investigación no ha recibido ninguna beca específica de agencias de los sectores público, comercial o sin ánimo de lucro.

## Conflicto de intereses

Ninguno.

## Agradecimientos

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

## Responsabilidades éticas

**Protección de personas y animales.** Los autores declaran que los procedimientos seguidos se conformaron a las normas éticas del comité de experimentación humana responsable y de acuerdo con la Asociación Médica Mundial y la Declaración de Helsinki.

**Confidencialidad de los datos.** Los autores declaran que han seguido los protocolos de su centro de trabajo sobre la publicación de datos de pacientes.

**Derecho a la privacidad y consentimiento informado.** Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

## Bibliografía

- Marenberg ME, Risch N, Berkman LF, Floderus B, de Faire U. Genetic susceptibility to death from coronary heart disease in a study of twins. *N Engl J Med.* 1994;330:1041-6.
- Olivieri F, Antonicelli R, Cardelli M, Marchegiani F, Cavallone L, Mocchegiani E, et al. Genetic polymorphisms of inflammatory cytokines and myocardial infarction in the elderly. *Mech Ageing Dev.* 2006;127:552-9.
- Frangogiannis NG, Smith CW, Entman ML. The inflammatory response in myocardial infarction. *Cardiovasc Res.* 2002;53:31-47.
- Woods A, Brull DJ, Humphries SE, Montgomery HE. Genetics of inflammation and risk of coronary artery disease: the central role of interleukin-6. *Eur Heart J.* 2000;21:1574-83.
- Wannamethee SG, Lowe GD, Shaper AG, Rumley A, Lennon L, Whincup PH. Associations between cigarette smoking, pipe/cigar smoking, and smoking cessation, and haemostatic and inflammatory markers for cardiovascular disease. *Eur Heart J.* 2005;17:1765-73.
- Bonafe M, Olivieri F, Cavallone L, Giovagnetti S, Mayegiani F, Cardelli M, et al. A gender-dependent genetic predisposition to produce high levels of IL-6 is detrimental for longevity. *Eur J Immunol.* 2001;31:2357-61.
- Ianni M, Callegari S, Rizzo A, Pastori P, Moruzzi P, Corradi D, et al. Pro-inflammatory genetic profile and familiarity of acute myocardial infarction. *Immun Ageing.* 2012;9:14.
- Bunce M. PCR-SSP typing in histocompatibility testing. Bidwell and Navarrete C. Imperial Collage Press, London; 2000. p. 149-86.
- Ambruzova Z, Mrazek F, Raida L. Association of IL6 and CCL2 gene polymorphisms with the outcome of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2009;44:227-35.
- Verjans GM, Brinkman BMN, van Doornik CE, Kijlstra A, Verweij CL. Polymorphism of tumor necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ ) at position -308 in relation to ankylosing spondylitis. *Clin Exp Immunol.* 1994;97:45-7.
- Kingkeow D, McNicoll JM, Maneekarn N, Wongtrakul J, Taecareonkul S, Suriyanon V, et al. Frequencies of IL10 SNP genotypes by multiplex PCRSSP and their association with viral load and CD4 counts in HIV-1 infected Thais. *Asian Pac J Allergy Immunol.* 2011;29: 94-101.
- Olsson ML, Hansson C, Avent ND, Akesson IE, Green CA, Daniels GL. A clinically applicable method for determining the three major alleles at the Duffy (FY) blood group locus using polymerase chain reaction with allele-specific primers. *Transfusion.* 1998;38:168-73.
- Sole X, Guino E, Valls J, Iniesta R, Moreno V. SNPStats: a web tool for the analysis of association studies. *Bioinformatics.* 2006;22:1928-29.
- Nie N, Hull C, Bent D. IBM Statistical Package for the Social Sciences (SPSS Version 20). Computer Software. Chicago; 2011.
- Biswas S, Ghoshal PK, Mandal SC, Mandal N. Relation of anti- to pro-inflammatory cytokine ratios with acute myocardial infarction. *Korean J Intern Med.* 2010;25:44-50.
- Fragoso JM, Vallejo M, Álvarez-León E, Delgado H, Peña-Duque MA, Cardoso-Saldaña G, et al. Alleles and haplotypes of the interleukin 10 gene polymorphisms are associated with risk of developing acute coronary syndrome in Mexican patients. *Cytokine.* 2011;55:29-33.
- Ito T, Ikeda U. Inflammatory cytokines and cardiovascular disease. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy.* 2003;2:257-65.
- Wang YN, Che SM, Ma AQ. Clinical significance of serum cytokines IL-1 beta, sIL-2R, IL-6, TNF-alpha and IFN- $\gamma$  in acute coronary syndrome. *Chin Med Sci J.* 2004;19:120-4.
- Aggarwal A, Schneider DJ, Terrien EF, Glibert KE, Dauerman HL. Increase in interleukin-6 in the first hour after coronary stenting: an early marker of the inflammatory response. *J Thromb Thrombolysis.* 2003;15:25-31.
- Funayama H, Ishikawa SE, Kubo N, Katayama T, Yasu T, Saito M. Increases in interleukin-6 and matrix metalloproteinase-9 in the infarct-related coronary artery of acute myocardial infarction. *Circ J.* 2004;68:451-4.
- Lino DOC, Freitas IA, Meneses GC, Martins AMC, Daher EF, Rocha JHC, et al. Interleukin-6 and adhesion molecules VCAM-1 and ICAM-1 as biomarkers of post-acute myocardial infarction heart failure. *Braz J Med Biol Res.* 2019;52:e8658.
- González M, Ruiz-Ríos JA, Pérez-Paredes M, Lozano ML, García-Almagro FJ, Martínez-Corbalán F, et al. Prognostic value of tumor necrosis factor-alpha in patients with ST-segment elevation acute myocardial infarction. *Rev Esp Cardiol.* 2007;60:1233-41.
- Valgimigli M, Ceconi C, Malagutti P, Merli E, Soukhomovskaia O, Francolini G, et al. Tumor necrosis factor- $\alpha$  receptor-1 is a major predictor of mortality and new-onset heart failure in patients with acute myocardial infarction: The Cytokine-Activation and Long-Term Prognosis in Myocardial infarction (C-ALPHA) study. *Circulation.* 2005;111:863-70.
- Ridker PM, Rifai N, Pfeffer M, Sacks F, Lepage S, Braunwald E. Elevation of tumor necrosis factor-alpha and increased risk of recurrent coronary events after myocardial infarction. *Circulation.* 2000;101: 2149-53.
- Neri M, Fineschi V, Di Paolo M, Pomara C, Riezzo I, Turillazzi E, et al. Cardiac oxidative stress and inflammatory cytokines response after myocardial infarction. *Curr Vasc Pharmacol.* 2015;13:26-36.
- Aydin S, Ugur K, Aydin S, Sahin I, Yardim M. Biomarkers in acute myocardial infarction: current perspectives. *Vasc Health Risk Manag.* 2019;15:1-10.
- Mahmoud AH, Taha NM, Zakhary M, Tadros MS. PTEN gene and TNF-alpha in acute myocardial infarction. *Int J Cardiol Heart Vasc.* 2019;23:100366.
- Bennet AM, Prince JA, Fei GZ, Lyrenäs L, Huang Y, Wiman B, et al. Interleukin-6 serum levels and genotypes influence the risk for myocardial infarction. *Atherosclerosis.* 2003;171:359-67.
- Moriya J. Critical roles of inflammation in atherosclerosis. *J Cardiol.* 2019;73:22-7.
- Groot HE, Al Ali L, van der Horst ICC, Schurer RAJ, van der Werf HW, Lipsic E, et al. Plasma interleukin 6 levels are associated with cardiac function after ST-elevation myocardial infarction. *Clin Res Cardiol.* 2019;108:612-21.
- Li Y-Y. Tumor necrosis factor-alpha G308A gene polymorphism and essential hypertension: a meta-analysis involving 2244 participants. *PLoS One.* 2012;7:e35408.
- Iyer SS, Cheng G. Role of Interleukin 10 transcriptional regulation in inflammation and autoimmune disease. *Crit Rev Immunol.* 2012;32:23-63.
- Westendorp RG, Langermans JA, Huizinga TW, Elouali AH, Verweij CL, Boomsma DI, et al. Genetic influence on cytokine production and fatal meningococcal disease. *Lancet.* 1997;349:170-3.
- Liu J, Li X, Xu R, Zhu C, Guo Y, Wu N, Li J. Serum interleukin 10 levels and adverse events in patients with acute coronary syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Chin Med J.* 2014;127:150-6.
- Målarstig A, Eriksson P, Hamsten A, Lindahl B, Wallentin L, Siegbahn A. Raised interleukin-10 is an indicator of poor outcome and enhanced systemic inflammation in patients with acute coronary. *Heart.* 2008; 94:724-9.

36. Tabrez S, Ali M, Jabir NR, Firoz CK, Ashraf GM, Hindawi S, et al. A putative association of interleukin-10 promoter polymorphisms with cardiovascular disease. *IUBMB Life*. 2017;69:522-7.
37. Cavusoglu E, Marmur JD, Hojjati MR, Chopra V, Butala M, Subnani R, et al. Plasma interleukin-10 levels and adverse outcomes in acute coronary syndrome. *Am J Med*. 2011;124:724-30.
38. Falcao RA, Christopher S, Oddi C, Reznikov L, Grizzard JD, Abouzaki NA, et al. Interleukin-10 in patients with ST-segment elevation myocardial infarction. *Int J Cardiol*. 2014;172:e6-8.
39. Yue Y, Wang C, Benedict C, Huang G, Truongcao M, Roy R, et al. Interleukin-10 deficiency alters endothelial progenitor cell-derived exosome reparative effect on myocardial repair via integrin-linked kinase enrichment. *Circ Res*. 2020;126:315-29.
40. Wu L, Dalal R, Cao CD, Postoak JL, Yang G, Zhang Q, et al. IL-10-producing B cells are enriched in murine pericardial adipose tissues and ameliorate the outcome of acute myocardial infarction. *PNAS*. 2019;116:21673-84.