

# Polimorfismos de IL-10 y TNF- $\alpha$ en sujetos con síndrome de intestino irritable en México

Max Schmulson<sup>1</sup>, Daniela Pulido-London<sup>1</sup>, Óscar Rodríguez<sup>1</sup>, Norma Morales-Rochlin<sup>1</sup>, Rosalinda Martínez-García<sup>1</sup>, María Concepción Gutiérrez-Ruiz<sup>2</sup>, Juan Carlos López-Alvarenga<sup>3</sup> y Gabriela Gutiérrez-Reyes<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Hígado, Páncreas y Motilidad (HIPAM). Departamento de Medicina Experimental. Facultad de Medicina. Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). Hospital General de México. México.

<sup>2</sup>Universidad Autónoma Metropolitana (UAM)-Iztapalapa. México. <sup>3</sup>Centro de Bioestadística. Departamento de Investigación Clínica. Hospital General de México. México

## RESUMEN

**Antecedentes:** evidencias recientes han mostrado una alteración en la regulación inmune en el síndrome de intestino irritable (SII) así como variaciones en los polimorfismos de citocinas.

**Objetivos:** determinar la frecuencia de polimorfismos IL-10 (-1082G/A) y TNF- $\alpha$  (-308G/A) en sujetos con SII en México.

**Métodos:** sujetos voluntarios contestaron el Cuestionario de Roma II y fueron clasificados como SII (n = 45) y controles (n = 92). Aquellos con SII fueron a su vez clasificados en SII-D: 22,2 %, SII-E: 28,9 % y SII-A/M: 48,9 %. Se comparó la frecuencia de los polimorfismos entre los grupos.

**Resultados:** no hubo diferencias entre SII vs. controles en la frecuencia del genotipo alto (8,9 vs. 18,5 %), intermedio (60,0 vs. 57,6 %) y bajo productor (23,9 vs. 38,9 %) de IL-10, p = 0,315. Tampoco en alto (0 vs. 1,1 %), intermedio (55,4 vs. 43,2 %) o bajo productor (43,5 vs. 56,8 %) de TNF- $\alpha$ , p = 0,296. Sin embargo, el bajo productor de IL-10 fue más frecuente en SII-D vs. SII-E vs. SII-A/M (63,6 vs. 7,1 vs. 33,3 %) p = 0,023.

**Conclusiones:** en este grupo de voluntarios en México la frecuencia de genotipos de IL-10 (-1082G/A) y TNF- $\alpha$  (-308G/A) fue similar en SII y controles, pero aquellos con SII-D presentaron mayor frecuencia del bajo productor de IL-10 sugiriendo una predisposición genética a una regulación inmune anormal dada por un menor componente antiinflamatorio en este subgrupo.

**Conflicto de interés:** En los últimos 2 años, Max Schmulson ha recibido fondos de investigación de Nestlé Ltd. y Nycomed/Takeda México. Ha sido miembro del Consejo Asesor de Alfa Wasserman y ha sido consultante para Almirall, Janssen y Nestlé Ltd. Ha sido ponente para Alfa Wasserman, Janssen y Takeda México. Juan Carlos López-Alvarenga ha servido como Biométrico para Takeda México. Los demás autores no tienen nada que declarar. **Declaraciones:** Este estudio fue presentado como trabajo de ingreso a la Academia Nacional de Medicina de México, por el Dr. Max Schmulson en 2012.

Recibido: 05-03-2013  
Aceptado: 19-08-2013

**Correspondencia:** Max Schmulson. Laboratorio de Hígado, Páncreas y Motilidad (HIPAM). Departamento de Medicina Experimental. Facultad de Medicina. Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). Hospital General de México. Dr. Balmis #148. Col. Doctores. C.P. 06726 México D.F. México e-mail: maxjulio@prodigy.net.mx

**Palabras clave:** Síndrome de intestino irritable. Genotipos. Interleucinas. IL-10. TNF- $\alpha$ . Diarrea. Estreñimiento. Inmunorregulación. México.

## ABSTRACT

**Background:** there has been recent evidence of an alteration in irritable bowel syndrome (IBS) immune regulation, as well as variations in cytokine polymorphisms.

**Aims:** to determine the frequency of the IL-10 (-1082G/A) and TNF- $\alpha$  (-308G/A) polymorphisms in subjects with IBS in Mexico.

**Methods:** volunteers answered the Rome II Questionnaire and were classified as IBS (n = 45) and controls (n = 92). The IBS subjects were then categorized as IBS-D: 22.2 %, IBS-C: 28.9 %, and IBS-A/M: 48.9 %. The polymorphism frequency among groups was compared.

**Results:** there were no differences between IBS vs. controls in the frequency of the high (8.9 vs. 18.5 %), intermediate (60.0 vs. 57.6 %), or low (23.9 vs. 38.9 %) producer IL-10 genotypes, p = 0.315. Neither were there differences in the high (0 vs. 1.1 %), intermediate (55.4 vs. 43.2 %), or Low (43.5 vs. 56.8 %) producer TNF- $\alpha$  genotypes, p = 0.296. However the low producer of IL-10 was more frequent in IBS-D vs. IBS-C vs. IBS-A/M (63.6 vs. 7.1 vs. 33.3 %) p = 0.023.

**Conclusions:** in this group of volunteers in Mexico, the frequency of the IL-10 (-1082G/A) and TNF- $\alpha$  (-308G/A) genotypes was similar in IBS and controls. However, there was a greater frequency of the low producer of IL-10 in those subjects with IBS-D, suggesting a genetic predisposition to abnormal immune regulation due to a lower anti-inflammatory component in this subgroup.

**Key words:** Irritable bowel syndrome. Genotypes. Interleukins. IL-10. TNF- $\alpha$ . Diarrhea. Constipation. Immunoregulation. Mexico.

Schmulson M, Pulido-London D, Rodríguez O, Morales-Rochlin N, Martínez-García R, Gutiérrez-Ruiz MC, López-Alvarenga JC, Gutiérrez-Reyes G. Polimorfismos de IL-10 y TNF- $\alpha$  en sujetos con síndrome de intestino irritable en México. Rev Esp Enferm Dig 2013;105:392-399.

## INTRODUCCIÓN

La fisiopatología del síndrome de intestino irritable (SII) no se conoce a ciencia cierta. Se han propuesto varios mecanismos como alteraciones en la motilidad intestinal, sensibilidad visceral, alteraciones en la comunicación bidireccional entre el cerebro y el intestino, estrés y factores psicológicos (1-3). Más recientemente se ha descrito que un grupo de pacientes desarrolla SII posterior a una infección gastrointestinal, lo cual se conoce como SII-post infeccioso (SII-PI) (4) pero también se han demostrado diferencias en la microbiota en adultos y niños con SII en comparación con controles sanos (5,6). Por otra parte, en un subgrupo de pacientes con SII se ha reportado la presencia de inflamación de bajo grado en la mucosa colónica, la cual consiste en un aumento en el número de linfocitos intraepiteliales, células cebadas y/o células enterocromafines (7,8). Además, esta inflamación de bajo grado parece estar relacionada principalmente con el SII-PI (9).

Otras alteraciones en la regulación inmune que han sido reportadas en SII incluyen menores niveles de interleucina-10 (IL-10) en suero y mayores niveles de citocinas pro-inflamatorias como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) (10). Por ejemplo, en México, nosotros hemos reportado muy recientemente en voluntarios con SII de acuerdo con los criterios diagnósticos de Roma II (10), que la presencia de menores niveles de IL-10 en suero es un factor predictor de SII, especialmente en mujeres con SII con predominio de diarrea (SII-D). Adicionalmente encontramos mayores niveles séricos de TNF- $\alpha$  en sujetos con SII en comparación con los controles (10). Asimismo, datos recientes han encontrado una asociación entre el SII y genes relacionados con la respuesta inmune (11-13). En este sentido, las citocinas son candidatas óptimas para estudios genéticos en SII ya que su expresión está regulada genéticamente (14). La predisposición para producir niveles altos o bajos de una determinada citocina pudiera estar en relación con la presencia de los polimorfismos que codifican la expresión del gen de cada una de ellas, como se ha sugerido para la citocina inmunorreguladora IL-10 y la pro-inflamatoria TNF- $\alpha$  (15,16). Estos polimorfismos pudieran entonces afectar la susceptibilidad para desarrollar SII así como su expresión fenotípica (SII-D, SII con predominio de estreñimiento: SII-E; alternante/mixto: SII-A/M), al menos en un subgrupo de pacientes en quienes la activación inmune sería un factor putativo. Sin embargo, de acuerdo con una reciente revisión sistemática de la literatura, los datos sobre las variantes genéticas de las citocinas en SII y controles son inconsistentes (17). Por otra parte, hasta el momento no se ha llevado a cabo ningún estudio en Latinoamérica sobre polimorfismos en SII (18).

Por lo anterior, nuestro objetivo fue explorar la frecuencia de los polimorfismos de IL-10 en un grupo de voluntarios de la ciudad de México con SII y controles.

Nuestra hipótesis fue que, en comparación con los controles, los sujetos con SII debían presentar mayor frecuencia del polimorfismo bajo productor de IL-10 y mayor frecuencia del polimorfismo alto productor de TNF- $\alpha$ .

## MÉTODOS

### Sujetos

El presente es un estudio en voluntarios de una universidad del sur-oriente de la Ciudad de México (Universidad Autónoma Metropolitana: UAM-Iztapalapa) que participaron en un estudio epidemiológico y serológico sobre trastornos funcionales gastrointestinales (TFGI) (19). Los voluntarios fueron invitados mediante convocatoria escrita a través de carteles colocados en diferentes lugares de la universidad. El único criterio de inclusión para el estudio epidemiológico era la edad mayor de 18 años, independientemente de su actividad dentro de la universidad, es decir, estudiantes, personal docente o administrativo o personal de servicios generales. No se realizó ningún estudio para excluir enfermedad celíaca o intolerancia a la lactosa, enfermedad inflamatoria intestinal o colitis microscópica, sobre el antecedente de infección gastrointestinal que pudiera desencadenar SII ni sobre ningún otro factor desencadenante del SII. De igual forma, no se investigó sobre el uso de cualquier tratamiento farmacológico incluyendo medicamentos que pudieran afectar la motilidad o antiinflamatorios no esteroideos. El estudio solo se enfocó en determinar la frecuencia de los TFGI.

### Cuestionario modular de Roma II en español en México

Todos los sujetos contestaron el Cuestionario Modular de Roma II que ha sido previamente traducido al español en México y validado en ese país (19). Los sujetos que reunieron criterios para SII y los controles negativos para TFGI fueron invitados a participar en el presente estudio de polimorfismos de IL-10 y TNF- $\alpha$ . Además, aquellos con SII fueron a su vez divididos en subtipos de SII de acuerdo con el hábito intestinal predominante en SII-D, SII-E, mientras que los sujetos que no cumplieron criterios para SII-D o SII-E fueron considerados como SII-A/M.

### Determinación de polimorfismos

En los sujetos que firmaron consentimiento informado para participar en el estudio de genotipos, se colectó una muestra de sangre venosa. El DNA leucocitario fue extraído mediante la técnica de precipitación por exceso

de sales utilizando el kit de aislamiento genómico de BDTract (Maxim Biotech Inc). La genotipificación de las citocinas fue realizada mediante el sistema de amplificación de dos brazos (ARMS). Los polimorfismos de las regiones promotoras de IL-10 en la posición -1082\*G y -1082\*A, y de TNF- $\alpha$  en la posición -308\*G y -308\*A, fueron analizados por la reacción de polimerasa en cadena (PCR) utilizando oligonucleótidos específicos para identificar los alelos alto y bajo productor de cada sitio polimórfico bi-alélico. Los productos amplificados del DNA fueron separados por electroforesis en gel de agarosa al 2 % y revelados con bromuro de etidio. El gel se visualizó bajo transiluminación con luz ultravioleta (UV), con un marcador de peso molecular de 100 pares de bases (bp) y fueron fotografiados. Los genotipos se expresaron como alto o bajo productor para los homocigotos e intermedio productor para los heterocigotos (20). Es de anotar que la genotipificación se realizó de manera ciega sin conocer las características clínicas de los pacientes, es decir, si se trataba de sujetos con SII o controles.

El protocolo fue aprobado por el Comité de Investigación de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). Todos los sujetos firmaron un consentimiento informado.

### Análisis estadístico

Las variables continuas fueron expresadas en media y las categóricas en porcentajes e IC 95 %. La distribución genotípica entre casos y controles se comparó mediante la Chi cuadrada de Pearson. Además se determinó el equilibrio de Hardy-Weinberg para los casos y controles de acuerdo con el sitio <http://ihg.gsf.de/cgi-bin/hw/hwa1.pl>.

El presente estudio fue exploratorio y por lo tanto no se determinó *a priori* un tamaño muestral ya que no se conocía la frecuencia de los alelos ni genotipos estudiados en población mexicana o latinoamericana. Por otra parte, la prevalencia de alelos en una población es una variable cuya esperanza matemática se debe calcular como de tipo aleatorio. En el presente estudio esta variable se utilizó para clasificar a los grupos de sujetos, por lo que se realizó un análisis de tipo pseudo-experimental. Considerando que la diferencia entre alelos para un fenotipo en particular varía, entonces el poder estadístico *post hoc* también varía de acuerdo con las diferencias fenotípicas encontradas. Con base en lo anterior, los valores para una prueba Z de dos colas para obtener diferencias de proporciones corresponden a los siguientes valores de poder estadístico: diferencias de 0,15, 0,20, 0,25, 0,30 corresponden a un poder estadístico *post hoc* de 60, 83, 95, 99 %, respectivamente. Considerando diferencias mayores del 20 % en las frecuencias fenotípicas entre los sujetos con SII y controles en nuestro estudio (por ejemplo: frecuencia del dolor o malestar abdominal o características del hábito

intestinal), el presente estudio tiene un poder estadístico *post hoc* mayor del 83 %.

### RESULTADOS

Ciento treinta y siete voluntarios participaron en el estudio. De ellos, 45 cumplieron criterios para SII y 92 se consideraron como controles. En la tabla I se muestra las características epidemiológicas y clínicas de los grupos. No hubo diferencias en la edad, género e índice de masa corporal (IMC) entre los sujetos con SII y controles. En cuanto a los sujetos con SII, estos fueron a su vez clasificados como SII-D: 22,2 %, SII-E: 28,9 % y SII-A/M: 48,9 %. Tampoco se encontraron diferencias en la edad, distribución por género e IMC entre los sujetos de acuerdo con los subgrupos de SII. Por otra parte, en cuanto a los síntomas intestinales investigados en el Cuestionario Modular de Roma II, como era de esperarse, el dolor y malestar abdominal fueron más frecuentes en los sujetos con SII en comparación con los controles. Asimismo, la presencia de evacuaciones sueltas, esfuerzo excesivo para evacuar, sensación de evacuación incompleta, moco en las evacuaciones y la sensación de llenura, inflamación o hinchazón abdominal también fueron más frecuentes en los sujetos con SII. En cuanto a los subtipos del SII, no hubo diferencia en la frecuencia del dolor o malestar abdominal, sin embargo, aquellos con SII-D presentaron con mayor frecuencia más de 3 evacuaciones al día, evacuaciones sueltas o líquidas y urgencia para evacuar, mientras que aquellos con SII-E presentaron con mayor frecuencia evacuaciones duras y esfuerzo excesivo para evacuar (Tabla I).

La frecuencia de los genotipos de IL-10 (-1082G/A) se encontró en equilibrio de Hardy Weinberg tanto para los casos como para los controles (Tabla II), sin embargo la frecuencia de los genotipos de TNF- $\alpha$  (-308G/A) se encontró en desequilibrio (Tabla III).

La mayoría de los sujetos con SII y los controles presentaron predominantemente polimorfismo intermedio productor de IL-10 seguido del bajo productor y no se encontraron diferencias en la frecuencia genotípica ni alélica entre los grupos (Tabla II). En cuanto al TNF- $\alpha$ , prácticamente no se encontró genotipo alto productor en toda la población de estudio, solo un sujeto control presentó esta variante y tampoco se encontraron diferencias entre SII y controles (Tabla III).

Al comparar la frecuencia de los genotipos de IL-10 entre los subgrupos SII-D vs. SII-E vs. SII A/M, se encontraron diferencias significativas. En SII-D predominó el genotipo bajo productor mientras que en SII-E y SII-A/M predominó el genotipo intermedio productor ( $p = 0,023$ ) (Fig. 1). En contraste, no se encontraron diferencias en la frecuencia de genotipos de TNF- $\alpha$  entre los subgrupos de SII ( $p = 0,146$ ). Ninguno de los sujetos con SII presentó el genotipo alto productor de TNF- $\alpha$  (Fig. 1).

Tabla I. Características generales de los grupos de estudio

	Controles (n = 92)	SII (n = 45)	p	SII-D (n = 10)	SII-E (n = 13)	SII-A/M (n = 22)	p
Género: femenino, n (%)	56 (68,3)	34 (69,4)	0,207	8 (80)	8 (61,5)	14 (63,6)	0,593
Edad: años, media (IC 95 %)	33,8 (31,1; 36,4)	31,2 (27,7; 34,7)	0,251	25,8 (21,3; 30,3)	29,5 (24,1; 34,8)	34,8 (28,7; 41,0)	0,134
IMC: media (IC 95 %)	24,4 (24,8; 26,4)	25,7 (23,4; 25,4)	0,076	26,2 (23,6; 28,7)	23,0 (21,6; 24,5)	24,6 (23,2; 26,0)	0,114
IMC: categorías % (IC 95 %)			0,620				0,816
Bajo peso	2,2 (0,26; 7,6)	0		0	0	0	
Normal	47,8 (37,3; 58,5)	61,0 (44,3; 74,3)		55,6 (21,2; 86,3)	72,7 (39,0; 94,0)	57,1 (34,0; 78,2)	
Sobrepeso	35,6 (26,1; 46,5)	31,7 (18,2; 46,6)		33,3 (7,4; 70,1)	27,3 (6,0; 61,0)	33,4 (14,5; 57,0)	
Obesidad	14,4 (7,7; 22,9)	7,3 (1,4; 18,2)		11,1 (0,3; 48,2)	0	9,5 (1,2; 30,4)	
<i>Características clínicas según el Cuestionario Modular de Roma II: % (IC 95 %)</i>							
En los últimos 3 meses presentó dolor o malestar en el abdomen	28,3 (19,4; 38,6)	93,3 (31,7; 98,6)	<0,001	100 (69,0; 100)	84,6 (54,5; 98,1)	95,5 (77,2; 99,9)	0,292
El dolor o malestar mejora o desaparece luego de evacuar	12,8 (6,6; 21,7)	65,9 (50,1; 79,5)	<0,001	50,0 (18,7; 81,3)	83,3 (51,5; 97,9)	63,6 (40,7; 82,8)	0,247
Cuando el malestar o dolor abdominal inicia, presenta un cambio en la frecuencia de las evacuaciones	0	63,6 (47,8; 77,6)	<0,001	70,0 (34,7; 93,3)	50,0 (21,1; 78,9)	68,2 (45,1; 86,4)	0,513
Cuando el malestar o dolor abdominal inicia, presenta un cambio en la consistencia de las evacuaciones (más flojas o más duras de lo normal)	2,3 (0,3; 8,1)	79,5 (64,7; 90,2)	<0,001	90,0 (55,5; 99,7)	91,7 (61,5; 99,8)	68,2 (45,1; 86,1)	0,174
Menos de 3 evacuaciones por semana	12,0 (0,7; 19,0)	15,6 (6,5; 29,5)	0,558	40,0 (12,2; 73,8)	7,7 (2,0; 36,0)	9,1 (1,1; 29,2)	0,053
Más de 3 evacuaciones al día	21,7 (13,8; 31,6)	37,8 (23,8; 53,5)	0,047	90,0 (55,5; 99,7)	0	36,8 (17,2; 59,3)	<0,001
Evacuaciones duras o caprinas	17,4 (10,3; 26,7)	48,9 (33,7; 64,2)	<0,001	0	92,3 (63,9; 99,8)	45,5 (24,2; 67,8)	<0,001
Evacuaciones sueltas, pastosas o líquidas	23,9 (15,6; 33,9)	46,7 (31,7; 62,1)	0,007	100,0 (74,1; 100)	15,4 (1,9; 45,4)	40,9 (22,1; 62,0)	<0,001
Esfuerzo excesivo para evacuar	3,3 (0,7; 9,2)	28,9 (16,3; 44,3)	<0,001	0	61,5 (31,6; 86,1)	22,7 (7,8; 45,3)	0,004
Urgencia para evacuar	34,8 (25,1; 45,4)	51,1 (35,8; 66,3)	0,067	80,0 (44,4; 97,5)	23,1 (5,0; 53,8)	54,5 (32,2; 75,6)	0,023
Sensación de evacuación incompleta	8,7 (3,8; 16,4)	22,2 (11,2; 37,1)	0,028	30,0 (6,7; 65,2)	15,4 (1,9; 45,4)	22,7 (7,8; 45,4)	0,703
Moco durante la evacuación	29,3 (20,3; 39,8)	77,8 (62,9; 88,8)	<0,001	90,0 (0,55; 99,7)	69,2 (38,6; 90,9)	77,3 (54,6; 92,2)	0,492
Sensación de llenura, inflamación o hinchazón abdominal	26,1 (17,5; 36,3)	46,7 (31,7; 62,1)	0,016	90,0 (55,5; 99,7)	15,4 (1,9; 45,4)	45,5 (24,4; 67,8)	0,002

**Tabla II. Distribución de genotipos y alelos de IL-10 en SII y controles**

Grupos	Todos	Frecuencia de genotipos			Frecuencia de alelos		EHW
		Alto productor GG	Intermedio productor GA	Bajo productor AA	Alto productor G	Bajo productor A	
	n	n (%)			n (%)		p*
SII	45	4 (8,9)	27 (60,0)	14 (31,1)	35 (38,9)	55 (61,1)	0,120
Controles	92	17 (18,5)	53 (57,6)	22 (23,9)	87 (47,3)	97 (52,7)	0,208
p		0,315			0,189		

EHW: equilibrio de Hardy Weinberg. \*Datos analizados mediante la p exacta con máxima verosimilitud.

**Tabla III. Distribución de genotipos y alelos de TNF-α en SII y controles**

Grupos	Todos	Frecuencia de genotipos			Frecuencia de alelos		EHW
		Alto productor AA	Intermedio productor GA	Bajo productor GG	Alto productor A	Bajo productor G	
	n	n (%)			n (%)		p*
SII	44	0	19 (43,2)	25 (56,8)	19 (21,6)	69 (78,4)	< 0,001
Controles	92	1 (1,1)	51 (55,4)	40 (43,5)	53 (28,8)	131 (71,2)	< 0,001
p		0,296			0,207		

EHW: equilibrio de Hardy Weinberg. \*Datos analizados mediante la p exacta con máxima verosimilitud.

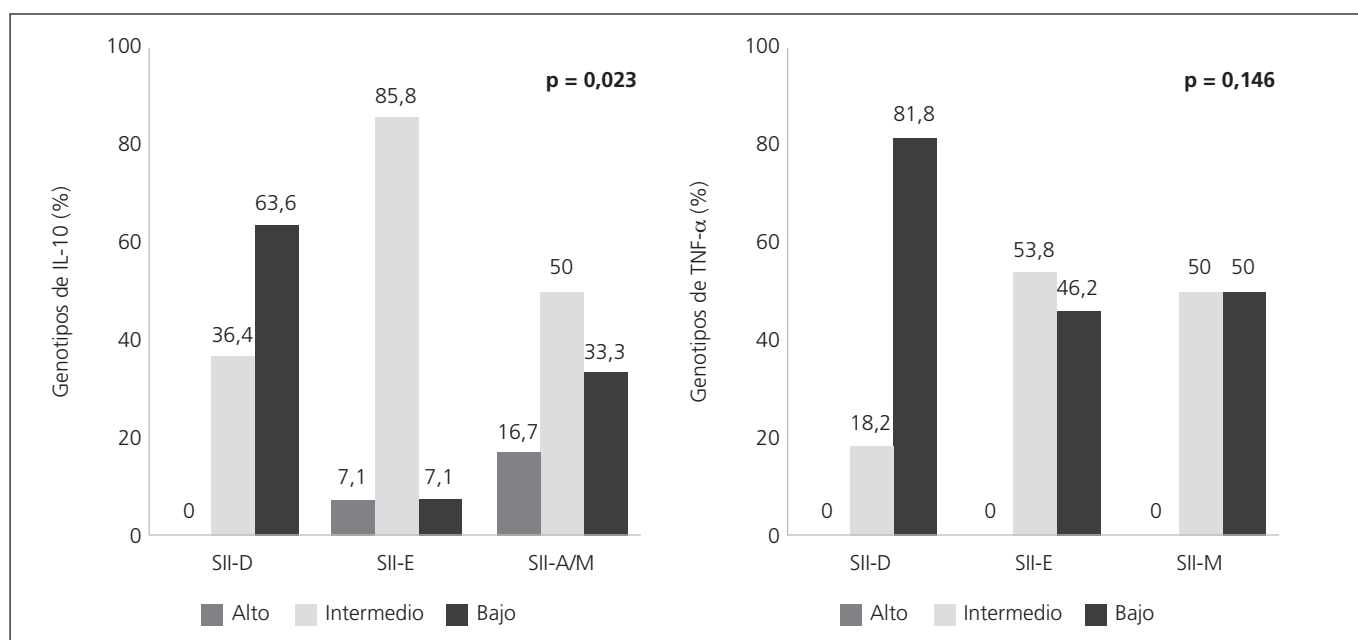


Fig. 1. La figura muestra la frecuencia de genotipos de IL-10 (-1082G/A) y TNF-α (-308G/A) de acuerdo con los subgrupos de SII. A la izquierda se observa que en SII-D predominó el genotipo bajo productor (A/A) de IL-10 mientras que en SII-E y SII-A/M el genotipo intermedio productor (G/A). A la derecha se muestra la distribución de los genotipos de TNF-α y se observa que no hubo diferencias entre los grupos. Es de anotar que ningún paciente con SII presentó genotipo alto productor (A/A).



## DISCUSIÓN

En el presente estudio en voluntarios en México, no encontramos diferencias en la frecuencia de genotipos ni de los alelos de los polimorfismos de IL-10 (-1082G/A) y TNF- $\alpha$  (-308G/A) entre los sujetos que llenaron criterios de Roma II para SII en comparación con los controles sin criterios para este trastorno funcional gastrointestinal. Además, el polimorfismo alto productor de TNF- $\alpha$  (AA) se encontró prácticamente ausente en esta población. Al analizar dichos polimorfismos entre los subgrupos de SII, el bajo productor de IL-10 (AA) fue significativamente más frecuente en aquellos con SII-D mientras que el intermedio productor fue significativamente más frecuente en los sujetos con SII-E. No hubo diferencias en los genotipos de TNF- $\alpha$  entre los subgrupos de SII de nuestra población de voluntarios.

Debido a que la producción de citocinas está determinada genéticamente, sus respectivos polimorfismos pueden ser diferentes entre sujetos con SII y controles sin criterios para este trastorno (14), pero los resultados al respecto no han sido conclusivos. Un estudio previo llevado a cabo en Turquía reportó menor frecuencia del genotipo alto productor de IL-10 en la posición -1082 en pacientes con SII en comparación con los controles (15). Estos hallazgos sugerían una predisposición genética a una alteración en la regulación inmune en aquellos con SII. En contraste, no se encontraron diferencias en estos polimorfismos entre SII y controles en estudios de Holanda (16), Corea del Sur (21), China (22), y la India (23).

Por otra parte, en Holanda, el intermedio productor del polimorfismo TNF- $\alpha$  en la posición -308 fue más frecuente en SII (16), mientras que no se encontraron diferencias en los polimorfismos de TNF- $\alpha$  en SII *vs.* controles en los estudios de Corea del Sur (21), y la India (23).

En nuestro estudio en voluntarios de la ciudad de México, no observamos diferencias en la prevalencia de los genotipos de IL-10 (-1082G/A) y TNF- $\alpha$  (-308G/A) entre SII y controles, similar a lo reportado en los estudios previos de países asiáticos. Esta falta de diferencias se puede deber a variaciones poblacionales propiamente dichas o al tamaño de nuestra muestra que no permite llegar a una conclusión cierta. Sin embargo, con respecto a este último factor consideramos que nuestra muestra de estudio es representativa de dicha población universitaria, ya que la frecuencia de SII del 34,7 % es similar al 35,5 % previamente encontrada en esa comunidad (19). A pesar de no haber encontrado diferencias en los polimorfismos estudiados entre los sujetos con SII y controles, interesantemente sí observamos diferencias significativas en SII-D en comparación con los otros subgrupos de SII, con una mayor frecuencia en el polimorfismo bajo productor de IL-10 en ese subgrupo. Estos hallazgos, que son sugestivos de una predisposición genética a una alteración en la regulación inmune en los sujetos con SII-D, son acordes con otros datos de la literatura. Por ejemplo, recientemente nosotros

hemos encontrado en la misma población en México que la presencia de bajos niveles séricos de IL-10 es un factor predictivo independiente del SII (10). Más aún, las mujeres con SII-D presentaron los niveles más bajos de IL-10 en comparación con aquellas con SII-E y SII-A/M. Otros datos en la literatura también sugieren alteraciones en la regulación inmune especialmente en SII-D. Por ejemplo, se han reportado mayores niveles de IL-10 derivada de células mononucleares de sangre periférica en SII-D en comparación con controles, si bien no se reportaron diferencias al compararlos con los otros subgrupos, es decir SII-E o SII-A/M (24). También se han encontrado otros factores tales como un aumento en las proteasas de serina en heces fecales en SII-D en comparación con SII-E y SII-A/M (25). Estas proteasas pueden desencadenar un aumento en la permeabilidad celular, la cual también se ha encontrado en asociación con un aumento en la frecuencia de las evacuaciones (26) así como con el mismo SII-D (27). Si bien nuestros hallazgos son compatibles con una predisposición genética para producir menores niveles de la citocina antiinflamatoria IL-10 en sujetos con SII-D, el diseño de nuestro estudio no permite determinar si la mayor frecuencia del genotipo bajo productor de IL-10 se traduciría en menores niveles de esta citocina en suero, menor expresión en la mucosa colónica o en una predisposición a la inflamación de bajo grado en la mucosa colónica como ha sido descrita en pacientes con SII. En el primer estudio realizado en Estados Unidos en este aspecto, Chang y cols. evaluaron tanto citocinas séricas como su expresión a nivel de la mucosa colónica, encontrando solo una menor expresión del mRNA de IL-10 en la mucosa sin diferencias en la celularidad de la misma, ni en los niveles séricos de las citocinas (28). Por lo anterior, la relación de las alteraciones en la regulación inmune dadas por las citocinas séricas y la inflamación de bajo grado en la mucosa colónica está aún por determinarse (8).

En cuanto al polimorfismo TNF- $\alpha$  (-308G/A), más de la mitad de los sujetos de nuestra población presentó el genotipo intermedio productor, lo cual constituye una frecuencia mayor que lo encontrado en caucásicos y en asiáticos (16,18,29). En contraste, encontramos una muy baja frecuencia del polimorfismo alto productor de TNF- $\alpha$  tanto en SII como en controles y no encontramos diferencias en la frecuencia de los alelos A y G, similar a lo reportado por Barkhordari en Irán (29). La baja frecuencia del alto productor de TNF- $\alpha$  (-308A) también ha sido descrita en estudios en población general (30). Además, la presencia del alelo alto productor en la posición -308A se ha relacionado con una mayor producción de TNF- $\alpha$  inducida por lipopolisacáridos bacterianos (LPS) en células mononucleares periféricas de sujetos con enfermedad inflamatoria intestinal (31), y parece estar relacionado con una menor respuesta al tratamiento con agentes anti-TNF en enfermedades reumatológicas (32). Sin embargo, a diferencia de las anteriores enfermedades, el SII no representa una verdadera enfermedad inflamatoria y es probable que ello

explique nuestra baja frecuencia del alto productor tanto en SII como en controles. Finalmente, debemos mencionar la desviación del equilibrio de Hardy Weinberg encontrada para los genotipos de TNF- $\alpha$  tanto en nuestros voluntarios con SII como en los controles. Este hallazgo puede estar en relación con el cruce genético que ocurre en poblaciones mestizas y que constituyen la mayoría en México (33,34).

Nuestro estudio tiene ciertas limitaciones. En primer lugar, el pequeño tamaño de la muestra puede ser la causa de no haber encontrado diferencias en los polimorfismos de IL-10 y TNF- $\alpha$  entre sujetos con SII y controles, sin embargo esto no resultó en una restricción para las diferencias observadas entre los subgrupos con SII que fueron aún menores. Además obtuvimos un buen poder estadístico *post hoc*. En todo caso, se requiere de estudios poblacionales de gran tamaño en nuestro país para confirmar nuestros hallazgos. En segundo lugar, tampoco determinamos diferencias entre sujetos con SII-PI y sin antecedentes de infecciones gastrointestinales como factor desencadenante del SII, sin embargo es de anotar que la frecuencia de SII-PI es muy baja en México (35). Tampoco descartamos la presencia de enfermedad celíaca ni de enfermedad inflamatoria intestinal en estos sujetos, lo cual pudo haber modificado la frecuencia de los polimorfismos estudiados, pero nuestro estudio tiene la fortaleza de haber sido realizado en sujetos de la comunidad y no en pacientes y de ser el primer estudio genético en población latinoamericana. Finalmente, no correlacionamos nuestros hallazgos de los polimorfismos con los niveles séricos de las citocinas respectivas, ni con la expresión de las mismas en la mucosa colónica para determinar el papel de los polimorfismos estudiados sobre estas citocinas y sobre la regulación inmune a nivel colónico, órgano blanco del SII.

En conclusión, en este grupo de voluntarios en México no se encontraron diferencias en la frecuencia de genotipos de IL-10 (-1082G/A) y TNF- $\alpha$  (-308G/A). Sin embargo, los sujetos con SII-D presentaron mayor frecuencia del genotipo bajo productor de IL-10, sugiriendo una predisposición genética a una regulación inmune anormal dada por un menor componente antiinflamatorio en este subgrupo. Se requiere de estudios poblacionales a gran escala para confirmar nuestros hallazgos.

## AGRADECIMIENTOS

Estudio financiado por el fondo de investigación PAPIIT, IN-211107 de DGAPA, UNAM. Óscar Rodríguez-Fandiño recibió la beca No. 336205 del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) de México.

## BIBLIOGRAFÍA

- Hasler WL. Traditional thoughts on the pathophysiology of irritable bowel syndrome. *Gastroenterol Clin North Am* 2011;40:21-43.
- Surdea-Blaga T, Baban A, Dumitrascu DL. Psychosocial determinants of irritable bowel syndrome. *World J Gastroenterol* 2012;18:616-26.
- Konturek PC, Brzozowski T, Konturek SJ. Stress and the gut: pathophysiology, clinical consequences, diagnostic approach and treatment options. *J Physiol Pharmacol* 2011;62:591-9.
- Spiller R, Garsed K. Postinfectious irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 2009;136:1979-88.
- Rajilic-Stojanovic M, Biagi E, Heilig HG, Kajander K, Kekkonen RA, Tims S, et al. Global and deep molecular analysis of microbiota signatures in fecal samples from patients with irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 2011;141:1792-801.
- Saulnier DM, Riehle K, Mistretta TA, Díaz MA, Mandal D, Raza S, et al. Gastrointestinal microbiome signatures of pediatric patients with irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 2011;141:1782-91.
- Ford AC, Talley NJ. Mucosal inflammation as a potential etiological factor in irritable bowel syndrome: A systematic review. *J Gastroenterol* 2011;46:421-31.
- Schmulson M, Chey WD. Abnormal immune regulation and low-grade inflammation in IBS: Does one size fit all? *Am J Gastroenterol* 2012;107:273-5.
- Collins SM, Bercik P. The relationship between intestinal microbiota and the central nervous system in normal gastrointestinal function and disease. *Gastroenterology* 2009;136:2003-14.
- Schmulson M, Pulido-London D, Rodríguez O, Morales-Rochlin N, Martínez-García R, Gutiérrez-Ruiz MC, et al. Lower serum IL-10 is an independent predictor of IBS among volunteers in Mexico. *Am J Gastroenterol* 2012;107:747-53.
- Camilleri M. Genetics and irritable bowel syndrome: from genomics to intermediate phenotype and pharmacogenetics. *Dig Dis Sci* 2009;54:2318-24.
- Villani AC, Lemire M, Thabane M, Belisle A, Geneau G, Garg AX, et al. Genetic risk factors for post-infectious irritable bowel syndrome following a waterborne outbreak of gastroenteritis. *Gastroenterology* 2010;138:1502-13.
- Camilleri M, Katzka DA. Irritable bowel syndrome: Methods, mechanisms, and pathophysiology. Genetic epidemiology and pharmacogenetics in irritable bowel syndrome. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2012;302:G1075-84.
- Smith AJ, Humphries SE. Cytokine and cytokine receptor gene polymorphisms and their functionality. *Cytokine Growth Factor Rev* 2009;20:43-59.
- Gonsalkorale WM, Perrey C, Pravica V, Whorwell PJ, Hutchinson IV. Interleukin 10 genotypes in irritable bowel syndrome: Evidence for an inflammatory component? *Gut* 2003;52:91-3.
- van der Veek PP, van den Berg M, de Kroon YE, Verspaget HW, Masclee AA. Role of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-10 gene polymorphisms in irritable bowel syndrome. *Am J Gastroenterol* 2005;100:2510-6.
- Ortiz-Lucas M, Saz-Peiro P, Sebastián-Domingo JJ. Irritable bowel syndrome immune hypothesis. Part two: The role of cytokines. *Rev Esp Enferm Dig* 2010;102:711-7.
- Bashashati M, Rezaei N, Bashashati H, Shafeyoun A, Daryani NE, Sharkey KA, et al. Cytokine gene polymorphisms are associated with irritable bowel syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Neurogastroenterol Motil* 2012;24:1102-e566.
- Schmulson M, Ortiz O, Santiago-Lomeli M, Gutiérrez-Reyes G, Gutiérrez-Ruiz MC, Robles-Díaz G, et al. Frequency of functional bowel disorders among healthy volunteers in Mexico City. *Dig Dis* 2006;24:342-7.
- Perrey C, Turner SJ, Pravica V, Howell WM, Hutchinson IV. ARMS-PCR methodologies to determine IL-10, TNF-alpha, TNF-beta and TGF-beta 1 gene polymorphisms. *Transp Immunol* 1999;7:127-8.
- Lee HJ, Lee SY, Choi JE, Kim JH, Sung IK, Park HS, et al. G protein beta3 subunit, interleukin-10, and tumor necrosis factor-alpha gene polymorphisms in Koreans with irritable bowel syndrome. *Neurogastroenterol Motil* 2010;22:758-63.
- Wang BM, Jiang XZ, Yang YL, Liu WT, Cao XC, Zhao XZ. A study of interleukin-10 gene polymorphism in irritable bowel syndrome. *Zhonghua Nei Ke Za Zhi* 2006;45:289-92.
- Santhosh S, Dutta AK, Samuel P, Joseph AJ, Ashok Kumar J, Kurian G. Cytokine gene polymorphisms in irritable bowel syndrome in Indian population - a pilot case control study. *Trop Gastroenterol* 2010;31:30-3.
- Liebrechts T, Adam B, Bredack C, Röth A, Heinzl S, Lester S, et al. Immune activation in patients with irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 2007;132:913-20.

25. Gecse K, Roka R, Ferrier L, Leveque M, Eutamene H, Cartier C, et al. Increased faecal serine protease activity in diarrhoeic IBS patients: a colonic luminal factor impairing colonic permeability and sensitivity. *Gut* 2008;57:591-9.
26. Marshall JK, Thabane M, Garg AX, Clark W, Meddings J, Collins SM. Intestinal permeability in patients with irritable bowel syndrome after a waterborne outbreak of acute gastroenteritis in Walkerton, Ontario. *Aliment Pharmacol Ther* 2004;20:1317-22.
27. Dunlop SP, Hebden J, Campbell E, Naesdal J, Olbe L, Perkins AC, et al. Abnormal intestinal permeability in subgroups of diarrhea-predominant irritable bowel syndromes. *Am J Gastroenterol* 2006;101:1288-94.
28. Chang L, Adeyemo M, Karagiannides I, Videlock EJ, Bowe C, Shih W, et al. Serum and colonic mucosal immune markers in irritable bowel syndrome. *Am J Gastroenterol* 2012;107:262-72.
29. Barkhordari E, Rezaei N, Ansari-pour B, Larki P, Alighardashi M, Ahmadi-Ashtiani HR, et al. Proinflammatory cytokine gene polymorphisms in irritable bowel syndrome. *J Clin Immunol* 2010;30:74-9.
30. Baran W, Szepietowski JC, Mazur G, Baran E. A-308 promoter polymorphism of tumor necrosis factor alpha gene does not associate with the susceptibility to psoriasis vulgaris. No difference either between psoriasis type I and type II patients. *Acta Dermatovenerol Alp Pannonica Adriat* 2006;15:113-8.
31. Bouma G, Crusius JB, Oudkerk Pool M, Kolkman JJ, von Blomberg BM, Kostense PJ, et al. Secretion of tumour necrosis factor alpha and lymphotoxin alpha in relation to polymorphisms in the TNF genes and HLA-DR alleles. Relevance for inflammatory bowel disease. *Scand J Immunol* 1996;43:456-63.
32. de Vries N, Tak PP. The response to anti-TNF-alpha treatment: gene regulation at the bedside. *Rheumatology (Oxford)* 2005;44:705-7.
33. Silva-Zolezzi I, Hidalgo-Miranda A, Estrada-Gil J, Fernández-López JC, Uribe-Figueroa L, Contreras A, et al. Analysis of genomic diversity in Mexican Mestizo populations to develop genomic medicine in Mexico. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009;106:8611-6.
34. Wang S, Ray N, Rojas W, Parra MV, Bedoya G, Gallo C, et al. Geographic patterns of genome admixture in Latin American Mestizos. *PLoS Genet* 2008;4:e1000037.
35. Rodríguez-Fandiño O, Hernández-Ruiz J, López-Vidal Y, Charúa L, Bandeh-Moghaddam H, Minzoni A, et al. Intestinal recruiting and activation profiles in peripheral blood mononuclear cells in response to pathogen-associated molecular patterns stimulation in patients with IBS. *Neurogastroenterol Motil* 2013;25:872-e699.