

ARTÍCULO ORIGINAL

Los polimorfismos en el promotor del gen IL 10 pueden contribuir con la susceptibilidad a la enfermedad celíaca.

López, Miryan Susana^{1,2*}; Tiscornia, María Mercedes^{2,4}; Rosas, Rocío Ayelen⁴; Di Carlo, María Beatriz³; Zapata, Pedro Darío⁴

¹Laboratorio Hospital Provincial de Pediatría Dr. F Barreyro. Posadas, Misiones, Argentina.

²Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones. Posadas, Misiones, Argentina.

³Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

⁴Laboratorio de Biotecnología Molecular, Instituto de Biotecnología Misiones (InBioMis), Universidad Nacional de Misiones. Posadas, Misiones, Argentina.

*Contacto: López, Miryan Susana, Chacra 240 Barrio Hipotecario, calle 2 casa 3 [C.P. 3300]. Posadas, Misiones, Argentina; mslopez2009@hotmail.com.

Resumen

Introducción: la activación de las respuestas inmunes innata y adaptativa en la enfermedad celíaca, lleva a una alteración de la red local de citoquinas y desarrollo de inflamación y lesión intestinal. Los polimorfismos en el promotor del gen IL10 podrían jugar un papel en la determinación de la expresión fenotípica de la enfermedad celíaca, desbalanceando el equilibrio a favor de un aumento de la expresión de citoquinas proinflamatorias. Objetivo: analizar la contribución de polimorfismos de nucleótido simple en el gen IL10 en la susceptibilidad a la enfermedad celíaca. Materiales y métodos: se extrajo ADN de sangre entera de 40 pacientes con enfermedad celíaca y de 80 controles y se amplificó una región en el promotor del gen de IL10 que contiene los polimorfismos -1082 [rs1800896 G/A], -819 [rs1800871C/T] y -592 [rs1800872C/A]. Se secuenciaron amplicones de 695pb y, para cada polimorfismo, se estableció la presencia del alelo en homocigosis o heterocigosis. Se determinó el riesgo mediante el cálculo *odds ratio* (OR), considerando estadísticamente significativo un $p < 0,05$. Resultados: presentaron riesgo de desarrollar enfermedad celíaca los polimorfismos rs1800871T/C [OR = 2,22 [1,23 – 4,01]; $p = 0,0073$] y rs1800872A/C [OR = 2,78 [1,27–6,09]; $p = 0,009$], con un modelo dominante. El riesgo se asoció al sexo femenino [OR = 3,49, IC 95% [1,32 – 9,19]; $p = 0,009$] y a concentraciones de a-tTG-IgA ≥ 100 U/ml [OR = 2,63, IC 95% [1,10 – 6,28]; $p = 0,03$]. Conclusiones: presentan riesgo de enfermedad celíaca los portadores del alelo menos frecuente T del rs1800871T/C y del alelo menos frecuente A del rs1800872A/C en el promotor del gen IL10, con un modelo dominante. El haplotipo que muestra asociación para el desarrollo de enfermedad celíaca es ATA. El análisis estratificado indica mayor riesgo de desarrollar la enfermedad en los portadores de los genotipos TC y TT del polimorfismo rs1800871T/C y de los genotipos AC y AA del polimorfismo rs1800872A/C asociados al sexo femenino y a las concentraciones de a-tTG-IgA ≥ 100 U/ml.

Palabras clave: gen IL10, polimorfismo genético, enfermedad celíaca, susceptibilidad genética, transglutaminasa.

Polymorphisms in the IL 10 gene promoter may contribute to susceptibility to celiac disease.

Abstract

Introduction: The activation of innate and adaptive immune responses in celiac disease leads to an alteration of the local cytokine network and the development of inflammation and intestinal injury. The polymorphisms in the IL10 gene promoter could play a role in determining the phenotypic expression of celiac disease, changing the balance towards an increase in the expression of proinflammatory cytokines. Objective: To analyze the contribution of simple nucleotide polymorphisms in the IL10 gene to the susceptibility to celiac disease. Materials and methods: We extracted DNA from whole blood of 40 patients with celiac disease and from 80 healthy individuals and then amplified a region in the IL10 gene promoter that contains the polymorphisms -1082 [rs1800896 G/A], -819 [rs1800871C/T] and -592 [rs1800872C/A]. We sequenced 695-bp amplicons, and, for each polymorphism, established the

presence of alleles in homozygosis or heterozygosis. We determined the risk by calculating the Odds Ratios (OR), considering a $p < 0.05$ statistically significant. Results: The rs1800871T/C (OR = 2.22 [1.23-4.01], $p = 0.0073$) and rs1800872A/C (OR = 2.78 [1.27 -6.09], $p = 0.009$) polymorphisms were associated with celiac disease risk, with a dominant model. The risk was associated with females (OR = 3.49, 95% CI [1.32-9.19], $p = 0.009$) and with concentrations of α -tTG-IgA ≥ 100 U/ml (OR = 2.63, 95% CI [1.10-6.28], $p = 0.03$). Conclusions: Carriers of the less frequent allele T of rs1800871T/C and the less frequent allele A of rs1800872A/C in the promoter of the IL10 gene, with a dominant model, present a risk of celiac disease. The haplotype that shows association with the development of celiac disease is ATA. The strategic analysis indicates a higher risk of developing celiac disease in carriers of the TC and TT genotypes of the rs1800871T/C polymorphism and of the AC and AA genotypes of the rs1800872A/C polymorphism associated with the female sex and concentrations of α -tTG-IgA ≥ 100 U/ml.

Key words: IL10 gene, genetic polymorphism, celiac disease, genetic susceptibility, transglutaminase.

Introducción

El gen IL10 (interleuquina 10) está ubicado en el brazo largo del cromosoma 1, en la posición 1q32.1, con un largo de 4891pb y contiene 5 exones y 4 intrones [1]. La expresión del gen IL10 se puede controlar en los niveles transcripcional y postranscripcional. La transactivación puede ocurrir por varios factores [2,3]. La proteína codificada por este gen es una citoquina homodimérica de 35 kD, que se describió originalmente como “factor inhibitorio de la síntesis de citoquina” (CSIF), debido a su capacidad para inhibir la secreción de citoquinas de los clones de células Th1 [4,5]. Esta citoquina reguladora tiene efectos pleiotrópicos y está involucrada en la expresión de citoquinas proinflamatorias y en la presentación de antígenos a través del complejo MHC [6-9]. Las principales células diana de los efectos inhibitorios de la IL10 son los monocitos/macrófagos, en los que suprime todas sus funciones en la inmunidad innata y específica, mejora las funciones inhibitorias, inductoras de tolerancia y de “captador” de estas células y también, la liberación de mediadores antiinflamatorios.

La producción de citoquinas se puede modular por factores genéticos y ambientales. La presencia de polimorfismos dentro de la codificación o de secuencias no codificantes del gen puede alterar la eficiencia de la transcripción y, por lo tanto, la producción de citoquinas. Diferentes polimorfismos de nucleótido simple (SNPs) en el promotor del gen IL10 se han asociado con la prevalencia y la gravedad de enfermedades inflamatorias [10-13]. Los SNPs pueden estar localizados en regiones codificantes o en la región promotora del gen, influenciando la actividad transcripcional del gen en intrones, en sitios de *splicing* o en regiones intragénicas [14].

La enfermedad celíaca (EC) es una enfermedad crónica, inmunomediada, sistémica, precipitada por la ingestión de proteínas tóxicas del trigo, avena, cebada y centeno, comúnmente llamadas gluten, que afectan el intestino delgado en individuos genéticamente predispuestos [15,16]. La etiología de la EC implica factores genéticos y ambientales y su patogenia involucra interacciones complejas entre éstos y el sistema inmune [17-21]. La activación de las respuestas inmunes innata y adaptativa lleva a una alteración de la red local de citoquinas y conduce al desarrollo de inflamación y lesión intestinal con diferentes formas clínicas

de presentación, según el “Documento consenso de enfermedad celíaca 2017” difundido por el Ministerio de Salud de la Nación [15].

Los polimorfismos en el promotor del gen IL10 podrían jugar un papel en la determinación de la expresión fenotípica de la EC, cambiando el equilibrio hacia un aumento de la expresión de citoquinas proinflamatorias.

Para regular la actividad del promotor IL10, diversas investigaciones han reportado que 3 SNPs desempeñan un rol causal importante. Éstos están situados en las posiciones -1082 (rs1800896A/G), -819 (rs1800871T/C) y -592 (rs1800872A/C) en relación con el sitio de inicio de la traducción. Juntos, forman tres bloques de tipo haplo que codifican la expresión IL10 “alta” (GCC), “intermedia” (ACC) o “baja” (ATA). La asociación de los SNPs en el promotor de IL10 y la cantidad de IL10 secretada son altamente contextuales y dependen del tipo de célula, tiempo de estimulación, tipo de estímulo y la variación genética individual. La IL10 es un importante regulador de la inmunidad de la mucosa, relevante también en su participación en los procesos inmunológicos relacionados con la EC [9,22].

El objetivo del estudio fue analizar la contribución de los polimorfismos de nucleótido simple en el gen de la IL10 a la susceptibilidad a la enfermedad celíaca.

Materiales y métodos

Se realizó un diseño de casos y controles. Se obtuvieron muestras de sangre de individuos previo a la obtención de un consentimiento informado. Se denominó “casos” a los pacientes con diagnóstico de celiaquía con títulos de anticuerpos anti-transglutaminasa IgA [α -Ttg-IgA] en suero superior al valor de corte 10 U/ml y anomalías de las vellosidades intestinales, según la clasificación de Marsh, en muestras de tejido duodenal obtenidas por biopsia endoscópica [15]. Se denominó individuos “control” a voluntarios sanos asintomáticos con α -Ttg-IgA negativos. Se consideró como población pediátrica a los individuos menores de 16 años y población adulta, a aquellos con 16 años o mayores al momento de la consulta.

El estudio fue aprobado por el Comité de Ética del Hospital Provincial de Pediatría Dr. Fernando Barreyro.

Estudios serológicos. Determinación de anticuerpos

La determinación de anticuerpos a-tTG-IgA se realizó por el método de enzoinmunoensayo en suero, en individuos con ayuno previo de 8 h. El equipo comercial utilizado está desarrollado con transglutaminasa humana recombinante activada por gliadina y calcio y anti-IgA humana conjugada con peroxidasa (Orgentec Diagnostica-Alemania). Se realizó la cuantificación del enzoinmunoensayo en lector de placas Stat Fax 303 (Awareness TechnologyInc-EEUU). La determinación contó con el testeo de la calidad a través del uso de los controles negativo y positivo, provistos por el fabricante (Orgentec Diagnostica-Alemania) y de un control de calidad externo específico para celiaquía, por suscripción al Programa Externo de Evaluación de la Calidad (PEEC) de la Fundación Bioquímica Argentina (FBA). El ADN genómico se extrajo de las muestras de sangre entera por el método de Salting Out modificado [23].

Diseño de cebadores y amplificación de las regiones en estudio

Los cebadores para amplificar las regiones que contienen los polimorfismos rs1800896A/G, rs1800871T/Cy, rs1800872A/C en el promotor del gen de IL10 se diseñaron mediante el programa Primer3Plus, disponible en línea, utilizando las secuencias de referencia contenidas en la base de datos GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>). A partir de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), utilizando cebadores sentido (5´-3´): CACACACAAAATCCA-AGACAA y antisentido (5´-3´) CCTGGGATGAATACCCAAGAC, se obtuvo un amplicón de 695 pb que incluía los tres polimorfismos.

La amplificación se realizó en un volumen final de 20 µl que contenía: Buffer 1X; MgCl₂ 3,5 mM; dNTPs 200 µM; cebador sentido y antisentido 0,5 µM; Taq polimerasa 1U; 1 µl de ADN matriz (dilución 1+14). Las condiciones de ciclado fueron: pre desnaturalización a 94°C, 3 minutos, seguida de 25 ciclos de

Tabla I. Análisis de riesgo de los polimorfismos rs1800896 A/G, rs1800871T/C rs1800872A/C del gen de IL10.

Modelo	Genotipo/ alelo	Casos n	Casos %	Controles n	Controles %	OR	IC 95%	p
rs1800896A/G								
Do	G	26	33	56	35	0,84	0,48-1,50	0,56
	A	55	67	104	65			
	AG – GG	21	53	43	54	0,95	0,44- 2,02	0,89
	AA	19	47	37	46			
Re	GG	2	13	13	16	0,29	0,06- 1,38	0,10
	AG-AA	35	87	67	84			
rs1800871T/C								
Do	T	30	38	34	21	2,22	1,23-4,01	0,007
	C	50	62	126	79			
	TC – TT	24	60	28	35	2,79	1,27-6,09	0,009
	CC	16	40	52	65			
Re	TT	4	10	6	8	1,37	0,36-5,16	0,64
	TC-CC	36	90	74	92			
rs1800872A/C								
Do	A	30	38	34	21	2,22	1,23-4,01	0,007
	C	50	62	126	79			
	AC – AA	24	60	28	35	2,79	1,27-6,09	0,009
	CC	16	40	52	65			
Re	AA	4	10	6	8	1,37	0,36- 5,16	0,64
	AC-CC	36	90	74	92			

► n, número de pacientes; OR, odds ratio; IC, intervalo de confianza; p, significancia estadística.

Tabla II. Análisis de haplotipos de los polimorfismos en el promotor del gen IL10.

Polimorfismo	rs1800896	rs1800871	rs1800872	Casos		Controles		p	OR (IC95%)	p
				n	%	n	%			
Haplotipo	A	C	C	13	32	39	47	0,13	3,50 (1,29-9,46)	0,04
	G	C	C	12	31	26	33	0,94		
	A	T	A	14	35	12	17	0,02		

► n, número de pacientes; OR, odds ratio; IC, intervalo de confianza; p, significancia estadística.

desnaturalización a 94°C, 30 segundos, hibridación a 55°C, 30 segundos, elongación a 72°C, 40 segundos y extensión final 72°C, 5 minutos. Los amplicones de 695 pb obtenidos fueron verificados mediante electroforesis en geles de agarosa al 2 % (p/v) en buffer TBE 0,5X, teñidos con Gelred™ (Figura 1).

Secuenciación del ADN

Se realizó mediante el servicio de secuenciación automática de MACROGEN (<http://dna.macrogen.com>). Los electroferogramas obtenidos se editaron utilizando el programa Chromas versión 2.6.4. Las secuencias obtenidas se compararon con las depositadas en GenBank. Se examinaron y verificaron los polimorfismos, individualmente, en los electroferogramas; para cada SNP se estableció la presencia del alelo en homocigosis o heterocigosis.

Análisis estadístico y genético de las muestras

En las muestras controles se comprobó el equilibrio de Hardy-Weinberg y se estableció la asociación con el factor de riesgo (presencia del alelo de menor frecuencia de cada SNP) [24]. El análisis de asociación/riesgo entre casos (pacientes celíacos) y controles para los polimorfismos en el gen IL10 se realizó usando los modelos de herencia dominante (Do) y recesivo (Re). Se utilizó la razón de proporciones *Odds Ratios* (OR) con intervalos de confianza de 95 %. El cálculo de los OR se realizó en el programa Epiinfo versión 7.2.1.0. Un p valor < 0,05 fue considerado estadísticamente significativo. La frecuencia de haplotipos y la asociación con la respuesta se realizó con el programa snpstats (<https://www.snpstats.net/start.htm>). Se llevó a cabo el análisis de riesgo estratificado por sexo (femenino/masculino), edad (pacientes pediátricos y adultos), concentración de anticuerpos a-tTG-IgA (< 100 U/ml y ≥ 100 U/ml) y sintomatología de EC (clásica o no clásica) de los 3 polimorfismos en el promotor del gen de IL10.

Resultados

Se analizaron en el estudio 40 individuos casos (29 mujeres y 11 hombres) con una edad media de 19 años (rango: 1 a 56 años) y 80 individuos controles (47 mujeres y 33 hombres) con una edad media de 27 años (rango: 1 a 79 años).

El equilibrio de Hardy Weinberg no reveló desviaciones significativas en la población control, lo que permitió realizar los estudios de asociación de los polimorfismos en casos y controles,

según los modelos de herencia Do y Re.

En la tabla I se muestra el análisis de riesgo del alelo menos frecuente para cada polimorfismo, según los modelos de herencia Do y Re. La tabla II muestra la frecuencia de haplotipos y la asociación del haplotipo con la respuesta para el promotor del gen IL10. Se calculó el riesgo de tener el haplotipo ATA respecto de los haplotipos ACC y GCC. La estratificación por sexo, edad, concentración de anticuerpos a-tTG-IgA y sintomatología de EC se muestran en las tablas III, IV y V.

Se encontró mayor riesgo de desarrollar EC en los portadores de los genotipos TC y TT para el rs1800871T/C, asociado al sexo y a concentraciones de a-tTG-IgA ≥ 100 U/ml (Tabla IV). Observaciones similares se presentaron para rs1800872A/C, ya que se encontró mayor riesgo de desarrollar EC en los portadores de los genotipos AC y AA asociado al sexo femenino y a las concentraciones de a-tTG-IgA ≥ 100 U/ml (Tabla V).

Discusión

La participación de la inmunidad es uno de los procesos fundamentales en la patogénesis de la EC. La respuesta inmune es generada por la presencia de partículas de gluten parcialmente digeridas que atraviesan la membrana del enterocito. El aumento de la permeabilidad intestinal, la cual regula el tráfico molecular entre el lumen intestinal y la submucosa, conduce a la producción y secreción de mediadores de la inflamación como respuesta al antígeno alimentario, el gluten. La susceptibilidad o la resistencia individual radica en variaciones de las respuestas inflamatorias e inmunológicas, generadas por cambios genéticos en los mediadores involucrados en estos procesos.

La falta de asociación del rs1800896G/A para los modelos de herencia analizados indica que este polimorfismo no contribuye de forma independiente a la susceptibilidad a la EC en nuestra población. Estudios realizados por Makni y col. [25] en cáncer y Mohammadi y col. [26] en lupus eritematoso sistémico, han asociado este polimorfismo con el riesgo de estas enfermedades con manifestaciones inflamatorias, como la EC.

La frecuencia de los alelos A y G obtenida en los pacientes celíacos (A 67%; G 33%) y controles (A 65%; G 35%) fue semejante y no presentó riesgo de EC. Schmulson y col. [2] y Turner y col. [3] identificaron al alelo G asociado con una alta producción y el alelo A, con baja producción de IL10. La mayor frecuencia del alelo A encontrada en este estudio indicaría una baja producción de la citoquina antiinflamatoria IL10, tanto en celíacos como en controles.

Tabla III. Análisis de riesgo estratificado según sexo, edad, concentración de anticuerpos a-tTG-IgA y sintomatología clásica y no clásica del rs1800986G/A, en función del modelo de herencia.

Mo	Genotipo	OR (IC 95%)		p	
		Femenino	Masculino		
Do	AG – GG	1,78	1,00	0,25	
	AA	(0,65-4,85)	(0,22-4,63)		
Re	GG	0,76	1,79	0,63	
	AG-AA	(0,25-2,31)	(0,41-7,72)		
		Niños			
Do	AG – GG	0,67	3,20	0,53	
	AA	(0,19-2,32)	(0,83-12,30)		
Re	GG	0,94	1,07	0,93	
	AG-AA	(0,24-3,67)	(0,33-3,51)		
		a-tTG-IgA < 100 U/ml			
Do	AG – GG	2,42	1,26	0,26	
	AA	(0,49-11,99)	(0,51-3,11)		
Re	GG	1,12	0,91	0,87	
	AG-AA	(0,27-4,65)	(0,34-2,45)		
		Síntomas clásicos			
Do	AG – GG	0,72	2,69	0,51	
	AA	(0,27-1,91)	(0,55-13,15)		
Re	GG	1,42	1	0,57	
	AG-AA	0,43-4,71	(0,25-4,06)		
		Síntomas no clásicos			

► Mo, modelo de herencia; Do, dominante; Re, recesivo; n, número de pacientes; OR, odds ratio; IC, intervalo de confianza; p, significancia estadística; A, adenina; G, guanina.

Los hallazgos sobre el polimorfismo rs1800871T/C revelaron que los portadores del alelo menos frecuente T poseen mayor riesgo de EC (OR = 2,22, IC 95% [1,23-4,01]; p = 0,007). Este alelo heredado en su forma Do (TC y TT) confiere riesgo de padecer la EC (OR = 2,79, IC 95% [1,27-6,09]; p = 0,009). El polimorfismo rs1800872A/C mostró un riesgo similar para los portadores del alelo A. Los portadores de este alelo en su forma Do (CA y AA) mostraron riesgo de EC (OR = 2,78, IC 95% [1,27-6,09]; p = 0,009) (Tabla I).

Nuñez y col. [27] estudiaron pacientes de la comunidad de Madrid (España) y reportaron que los polimorfismos de la IL10 rs1800896 y rs1800872 no parecen participar en la predisposición de la EC. Zupin y col. [28] estudiaron pacientes del noroeste de Italia y no observaron diferencias significativas para la distribución de los tres polimorfismos en el gen IL10 entre los pacientes celíacos y los controles, con la excepción de un riesgo ligeramente mayor para el alelo A del polimorfismo rs1800896 en individuos varones HLA-DQ8.

El haplotipo ATA, relacionado a baja producción de IL10, de

los pacientes con EC, en relación con los controles, fue más frecuente (35 % vs 17 %), sin diferencias para las frecuencias de los haplotipos ACC y GCC (Tabla II), en concordancia con lo obtenido por Hofmann y col. [9] quienes también encontraron que los haplotipos ATA fueron más frecuentes mientras que los haplotipos GCC fueron menos frecuentes en los pacientes con EC. La frecuencia de GCC en las posiciones -1082, -819 y -592 (rs1800896, rs1800871 y rs1800872) es superior al 50 % en los caucásicos pero inferior al 5% en las poblaciones de ascendencia asiática [3]. La mayor prevalencia de haplotipo ATA del promotor de IL10 y, posteriormente, la expresión reducida de la IL10 podrían contribuir, junto con la predisposición genética, al desarrollo de la EC.

El estudio de asociación, con un OR = 3,5, IC95% [1,29-9,46]; p = 0,04, indicó un efecto de riesgo del haplotipo ATA con respecto a los haplotipos ACC y GCC. Garrote y col. [10] observaron en pacientes celíacos de las comunidades de Valladolid y Barcelona (España) una mayor frecuencia del haplotipo GCC (asociado a alta producción de IL10), en comparación con controles sa-

nos, mientras que el haplotipo ATA podría ser un marcador protector. Nuñez y col. [27] y Zupin y col. [28] encontraron que la distribución de los haplotipos formados por esos tres SNPs (ACC, ATA y GCC) fue semejante. Estos estudios, que miden la relación entre la frecuencia de SNPs y la incidencia de la enfermedad y la penetrancia de haplotipos específicos en distintas poblaciones, presentan discordancia, lo que motiva su continua investigación. Los diferentes resultados encontrados pueden ser el producto de genotipos potencialmente variables con la aparición de la enfermedad, por ejemplo, formas diferentes de presentación en niños y adultos, así como las diferencias regionales en la prevalencia de los distintos haplotipos de IL10.

La influencia de factores como sexo, edad, concentración de anticuerpos a-tTG-IgA y diferente sintomatología (clásica y no clásica) se evidenció a través de un análisis estratificado para cada polimorfismo, de acuerdo con el modelo de herencia. A diferencia de Zupin y col. [4], quienes encontraron que el genotipo AA del rs1800986G/A era más frecuente en varones, no se encontraron diferencias al estratificar por sexo, edad, concentra-

ción de anticuerpos y síntomas clínicos para este polimorfismo (Tabla III). En la estratificación por los mismos factores para el polimorfismo rs1800871T/C, el mayor riesgo de desarrollar EC se encontró en los portadores de los genotipos TC y TT asociados al sexo femenino (OR = 4,47, IC 95% [1,67 – 12,03]; p = 0,002) (Tabla III) y a concentraciones de a-tTG-IgA ≥ 100 U/ml (OR = 3,04, IC95% [1,26 – 7,32]; p = 0,011) (Tabla IV). Observaciones similares se presentaron para rs1800872A/C que indicaron mayor riesgo de desarrollar EC en los portadores de los genotipos AC y AA asociado al sexo femenino (OR = 3,49, IC 95% [1,32 – 9,19]; p = 0,009) y a las concentraciones de a-tTG-IgA ≥ 100 U/ml (OR = 2,63, IC 95% [1,10 – 6,28]; p = 0,03) (Tabla V).

La asociación entre los genotipos de IL10 con la concentración de a-tTG-IgA ≥ 100 U/ml podría estar relacionada con una alteración en la producción de la citoquina antiinflamatoria derivada de los linfocitos T. El desbalance entre las citoquinas pro y antiinflamatorias es particularmente importante en el intestino en la prevención de infecciones y/o inflamaciones de la mucosa [2]. La expresión de IL10 está bajo el control de variantes

Tabla IV. Análisis de riesgo estratificado según sexo, edad, concentración de anticuerpos a-tTG-IgA y sintomatología clásica y no clásica del rs1800871T/C en función del modelo de herencia.

Mo	Genotipo	OR	p	OR	p
		(IC 95%)		(IC 95%)	
		Femenino	Masculino		
Do	TC – TT	4,47	0,002	2,37	0,22
	CC	(1,67-12,03)		(0,58-9,72)	
Re	TT	1,09	0,93	2,22	0,41
	TC-CC	(0,17-6,93)		(0,32-15,43)	
		Niños	Adultos		
Do	TC – TT	4,00	0,02	3,34	0,02
	CC	(1,15-13,02)			
Re	TT	1,65	0,55	(1,13-9,87)	---
	TC-CC	(0,32-8,39)		a	
		a-tTG-IgA < 100U/ml	a-tTG-IgA ≥ 100 U/ml		
Do	TC – TT	2,97	0,07	3,04	0,011
	CC	(0,89-9,95)		(1,26-7,32)	
Re	TT	2,74	0,24	1,31	0,77
	TC-CC	(0,48-15,67)		(0,21-8,31)	
		Síntomas clásicos	Síntomas no Clásicos		
Do	TC – TT	3,71	0,002	4,95	0,016
	CC	(1,57-8,75)		(1,22-20,12)	
Re	TT	1,70	0,44	1,23	0,86
	TC-CC	(0,47-6,57)		(0,13-11,33)	

► Mo, modelo de herencia; Do, dominante; Re, recesivo; n, número de pacientes; OR, odds ratio; IC, intervalo de confianza; p, significancia estadística; T, timina; C, citosina; a, no se encontraron celíacos adultos con el genotipo TT.

Tabla V. Análisis de riesgo estratificado según sexo, edad, concentración de anticuerpos a-tTG-IgA y sintomatología clásica y no clásica del rs1800872A/C en función del modelo de herencia.

Mo	Genotipo	OR	P	OR	P
		(IC 95%)		(IC 95%)	
		Femenino	Masculino		
Do	AC – AA	3,49	0,009	2,69	0,16
	CC	(1,32-9,19)		(0,65-11,06)	
Re	AA	1,09	0,93	2,22	0,43
	AC-CC	(0,17-6,93)		(0,32-15,43)	
		Niños	Adultos		
Do	AC – AA	4,00	0,02	3,09	0,04
	CC	(1,15-13,54)		(1,05-9,09)	
Re	AA	1,65	0,55	B	---
	AC-CC	(0,32-8,39)			
		a-tTG-IgA < 100 U/ml	a-tTG-IgA ≥ 100 U/ml		
Do	AC – AA	2,95	0,07	2,63	0,03
	CC	(0,89-9,97)		(1,10-6,28)	
Re	AA	2,74	0,24	1,31	0,77
	AC-CC	(0,48-15,49)		(0,21-8,31)	
		Síntomas clásicos	Síntomas no clásicos		
Do	AC – AA	3,02	0,03	3,71	0,036
	CC	(1,11-8,15)		(1,03-13,42)	
Re	AA	2,90	0,40	B	---
	AC-CC	(0,74-11,43)			

► Mo, modelo de herencia; Do, dominante; Re, recesivo; n, número de pacientes; OR, odds ratio; IC, intervalo de confianza; p, significancia estadística; A, adenina; C, citosina; b, sin pacientes con el genotipo AA.

del promotor del gen IL10 que resultan en el reclutamiento de factores de transcripción y elementos reguladores. Los niveles de IL10 están determinados por esas complejas interacciones [1,2]

La asociación entre los genotipos TC y TT del rs1800871 y los genotipos AC y AA del rs1800872 con el aumento del riesgo de EC observado en el grupo femenino podría corresponder al hecho de que, en las mujeres, el haplotipo HLA influye en el desarrollo de la EC más que otros factores. En las mujeres con EC, el grupo de estudio de Megjorni y col. [5] han observado, con más frecuencia que en los pacientes masculinos, la presencia de los alelos DQA1 y DQB1 que codifican los dímeros DQ2 o DQ8 relacionados con la epigenética específica de los padres. Hasta el presente, no se encontraron reportes realizados por otros autores teniendo en cuenta el modelo de herencia ni buscando establecer la influencia de factores como sexo, edad, concentración de anticuerpos [a-tTG-IgA y a-DGP-IgG] y diferente sintomatología (clásica y no clásica), a través de un análisis estratificado para cada polimorfismo.

Agradecimientos

Se agradece al Servicio de Gastroenterología del Hospital de Pediatría Dr. F. Barreyro y a los Servicios de Gastroenterología y de Anatomía Patológica del Hospital Escuela de Agudos Dr. R. Madariaga, pertenecientes al Parque de la Salud, Posadas, Misiones.

Asistencia científica, técnica y financiera

Proyectos de Investigación Impacto Tecnológico y Social-UNaM Resol 1588/15., Becas del Programa Estratégico de Formación de Recursos Humanos en Investigación y Desarrollo (PERHID). Resol. 1334/18.

Referencias bibliográficas

- [1]. National Center for Biotechnology Information. [Internet]. NCBI 2019 [citado 20 julio 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/3586>.
- [2]. Iyer SS, Cheng G. Role of Interleukin 10 Transcriptional Regulation in Inflammation and Autoimmune Disease. Crit

- Rev Immunol 2012;32(1):23-63.
- [3]. Li X, Lalic J, Baeza - Centurion P, Dhar R, Lehner B. Changes in gene expression shift and switch genetic interactions. *Nat Commun* 2019; 10: 3886.
- [4]. O'Shea J, Gadina-Massimo SR. Cytokines and Cytokine Receptors. En: *Clinical Immunology Principles and Practice*. 5a. ed. USA: Rich R, Fleisher T, Weyand C; 2019. p. 127-55.
- [5]. Turner DM, Williams DM, Sankaran D, Lazarus M, Sinnott PJ, Hutchinson IV. An investigation of polymorphism in the interleukin-10 gene promoter. *Eur J Immunogenet* 1997;24:1-8.
- [6]. Moore KW, de Waal Malefyt R, Coffman RL, O'Annunzio Rev Immunol. 2001;19:683-765. Garra A. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. *Annu Rev Immunol* 2001;19:683-765.
- [7]. Sabat R, Grütz G, Warszawska K, Kirsch S, Witte E, Wolk K et al. Biology of interleukin-10. *Cytokine Growth Factor Rev* 2010;21(5):331-44.
- [8]. Hofmann SR, Rösen-Wolff A, Tsokos GC, Hedrich CM. Biological properties and regulation of IL-10 related cytokines and their contribution to autoimmune disease and tissue injury. *Clin Immunol* 2012;143(2):116-27.
- [9]. Hofmann SR, Laass MW, Fehrs A, Schuppan D, Zevallos VF, Salminger D et al. IL10 promoter haplotypes may contribute to altered cytokine expression and systemic inflammation in celiac disease. *Clin Immunol* 2018;190:15-21.
- [10]. Trifunovic J, Miller L, Debeljak Ž, Horvat V. Pathologic patterns of interleukin 10 expression - A review. *Biochem Med (Zagreb)* 2015;25(1):36-48.
- [11]. Faupel-Badger JM, Kidd LCR, Albanes D, Virtamo J, Woodson K, Tangrea JA. Association of IL-10 polymorphisms with prostate cancer risk and grade of disease. *Cancer Causes Control* 2008;19(2):119-24.
- [12]. 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(1):91-3.
- [13]. Rosero C, Corredor M, Mejía L. Polimorfismos en genes implicados en el desarrollo de cáncer gástrico: revisión. A Review of Polymorphisms in Genes Involved in the Development of Gastric Cancer. *Rev Col Gastroenterol* 2016;31(4):391-402.
- [14]. Caratachea Checa MA. Polimorfismos genéticos: Importancia y aplicaciones. *Rev del Inst Nac Enfermedades Respir* 2007;20(3):213-21.
- [15]. Ministerio de Salud Argentina. Documento de consenso de enfermedad celíaca 2017. *Guía Minist.* 2017;1-46.
- [16]. Tye-Din JA, Galipeau HJ, Agardh D. Celiac Disease: A Review of Current Concepts in Pathogenesis, Prevention, and Novel Therapies. *Front Pediatr* 2018;6: 350.
- [17]. Green PHR, Cellier C. Celiac Disease. *N Engl J Med* 2007;357(17):1731-43.
- [18]. Green PHR, Lebowl B, Greywoode R. Celiac disease. *J Allergy Clin Immunol* 2015;135(5):1099-106.
- [19]. Bai JC, Ciacci C, Melberg J. World Gastroenterology Organization Global Guidelines: Celiac Disease February 2017. *J Clin Gastroenterol* 2017;51(9):755-68.
- [20]. Dieli-Crimi R, Cénit MC, Núñez C. The genetics of celiac disease: A comprehensive review of clinical implications. *Journal of Autoimmunity* 2015;64:26-41.
- [21]. Lebowl B, Sanders DS, Green PHR. Coeliac disease. *Lancet* 2017;391:70-81.
- [22]. Schmulson M, Pulido -London D, Rodríguez Ó, Morales -Rochlin N, Martínez - García R, Gutiérrez - Ruiz MC, López - Alvarenga JC, Gutiérrez - Reyes G. Polimorfismos de IL-10 y TNF- α en sujetos con síndrome de intestino irritable en México. *Rev Esp Enfermedades Dig* 2013;105(7):392-9.
- [23]. Riera MA, Rojas ME, Zapata PD. Protocolo de extracción de DNA por salting-out para pequeños volúmenes de sangre. *Rev Cienc y Tecnol* 2010;13:157-62.
- [24]. Iniesta R, Guinó E, Moreno V. Análisis estadístico de polimorfismos genéticos en estudios epidemiológicos. *Gac Sanit* 2005;19(4):333-41.
- [25]. Makni L, Ben Hamda C, Al-Ansari AK, Souiai O, Gazouani E, Mezlini A et al. Association of common il-10 promoter gene variants with the susceptibility to head and neck cancer in Tunisia. *Turkish J Med Sci* 2019;49(1):123-8.
- [26]. Mohammadi S, Saghaeian Jazi M, Zare Ebrahimabad M, Eghbalpour F, Abdolahi N, Tabarraei A et al. Interleukin 10 gene promoter polymorphisms (rs1800896, rs1800871 and rs1800872) and haplotypes are associated with the activity of systemic lupus erythematosus and IL10 levels in an Iranian population. *Int J Immunogenet* 2019;46(1):20-30.
- [27]. Núñez C, Alecsandru D, Varadé J, Polanco I, Maluenda C, Fernández-Arquero M et al. Interleukin-10 haplotypes in Celiac Disease in the Spanish population. *BMC Med Genet* 2006;7:32.
- [28]. Zupin L, Polesello V CE. Interleukin-10 gene promoter polymorphisms in celiac patients from north-eastern Italy. *Hum Immunol* 2014;75(7):656-61.
- [29]. Garrote JA, Arranz E, Gómez - González E, León AJ, Farré C, Calvo C et al. IL6, IL10 and TGFB1 gene polymorphisms in coeliac disease: Differences between DQ2 positive and negative patients. *Allergol Immunopathol (Madr)*. 2005;33(5):245-9.
- [30]. Megiorni F, Mora B, Bonamico M, Barbato M, Montuori M, Viola F et al. HLA-DQ and susceptibility to celiac disease: Evidence for gender differences and parent-of-origin effects. *Am J Gastroenterol* 2008;103(4):997-1003.