

Polimorfismo genético de citoquinas y distribución alélica del sistema HLA entre algunos descendientes de europeos en la Argentina con enfermedad coronaria

ENRIQUE GURFINKEL*, KARIN PADROS, BRANCO MAUTNER*, EDUARDO RAIMONDI

RESUMEN

Objetivo

En el presente trabajo proponemos que existe una peculiar asociación entre el complejo HLA de clases I y II, junto con cierto polimorfismo ubicado en la región promotora del gen que codifica las citoquinas TNF- α interleuquina 10, en la señal de secuencias TGF- β 1, como en el primer intrón del IFN- γ , con la evolución de la aterosclerosis coronaria, en ciertos sujetos descendientes de europeos en la Argentina.

Material y método

Se establecieron dos grupos de pacientes con angina inestable. Grupo 1: aquellos con antecedentes de un infarto previo en los últimos 12 meses y grupo 2: sin ningún antecedente de necrosis tisular. Cien sujetos de igual comunidad y aparentemente sanos sirvieron de controles a fin de establecer la distribución alélica del complejo HLA.

Resultados

Al año de seguimiento de ambos grupos, todos los pertenecientes al grupo 1 requirieron rehospitalización por recurrencia de la isquemia contra ninguno del grupo 2 ($p = 0,001$). Se detectó una diferencia significativa en la distribución alélica del HLA B44 entre el grupo 1 *versus* el control ($p = 0,04$) y el HLA DR B1-07 entre el grupo 2 y el control ($p = 0,01$). Hubo una diferencia significativa entre los altos productores de TNF- α en el grupo 1 *versus* el grupo control ($p = 0,03$), como también del TGF- β 1 (78%) *versus* los controles (40%) ($p < 0,05$).

Conclusión

Estos resultados sugieren que ciertos descendientes de europeos radicados en Buenos Aires poseen un genotipo de alta producción de citoquina TGF- β 1, baja de TNF- α y presencia frecuente de un alelo HLA B44, asociado con una probabilidad mayor de accidentes coronarios subsecuentes en comparación con sujetos de etnias similares. REV ARGENT CARDIOL 2001; 69: 404-411.

Palabras clave Polimorfismo genético - Aterosclerosis - Citoquinas - Angina inestable

INTRODUCCION

La aterosclerosis parece tratarse de una condición asociada con un fenómeno inflamatorio crónico. Su etiología aún se desconoce.

Recientemente, el foco del interés científico estu-

vo dirigido a entender si una respuesta inmunológica anormal, como ocurre en situaciones clínicas crónicas, puede tener una susceptibilidad genética.

Avances recientes en estudios epidemiológicos permitieron asociar algunas variaciones genéticas

con el riesgo de desarrollo de accidentes vasculares. (1) Todos estos estudios nos permiten especular que el sistema inmunológico se encuentra regulado en parte por la liberación de una serie de citoquinas con una influencia importante sobre la actividad de ciertas células, su diferenciación y sus funciones. Habitualmente, estas citoquinas llegan al medio que rodea un segmento tisular dañado. En esa circunstancia media una acción celular o humoral, lo cual hace que estas citoquinas controlen la naturaleza de la respuesta ante esa situación aguda. (2)

El hecho de que pacientes con condiciones aparentemente similares sean ingresados en hospitales con diagnóstico inicial de, por ejemplo, angina inestable, evolucionen a espectros más oscuros, a recurrencia de nuevos eventos isquémicos o aun a formas quiescentes de angina, hace presumir que en estas presentaciones de la aterosclerosis están implicados mecanismos fisiopatológicos desconocidos. (3, 4) Uno de éstos, pasible de correlacionarse con la evolución clínica de distintos individuos, podría tratarse, sencillamente, de rasgos particulares presentes en los genes reguladores de la síntesis de citoquinas a través de presentaciones polimorfas. (5, 6)

Este polimorfismo se describió en genes que codifican algunas citoquinas, como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), el cual es liberado en el sitio de la inflamación por macrófagos y causa la activación de células endoteliales e incluso la expresión del complejo mayor de histocompatibilidad humana (HMC o HLA). (7)

También se describió en relación con el interferón gamma (IFN- γ), el cual es una citoquina proinflamatoria capaz de inducir y promover la generación de anticuerpos, y también con la síntesis del factor de crecimiento beta-1 (TGF- β 1), de acción inmunosupresora y antiinflamatoria. Otra citoquina ampliamente analizada es la IL-10, la cual, actuando habitualmente como una proteína antiinflamatoria, generalmente es liberada por los monocitos, las células T y B.

Algunas de estas citoquinas poseen acciones adicionales, como cierto control supresor de la actividad normal de las células T, al atenuar la expresión de moléculas del complejo HLA de clase II. (8)

Recientemente se incorporaron evidencias sobre la codificación genética de otras interleuquinas, como la IL-1 α y su oponente, la IL-1 α antagonista del receptor correspondiente (IL-1ra). (9)

Todas estas citoquinas son reguladas en forma independiente, de manera tal que el ser humano puede ser "interpretado" como un verdadero mosaico de genes de alta y baja producción de citoquinas.

En el presente trabajo proponemos la hipótesis de que cierto polimorfismo determinado en la región promotora de genes, como del primer intrón, y la

señal de secuencias que codifican algunas citoquinas, en relación con un particular marco de antígenos expresados como HLA de clases I y II en un muy seleccionado grupo de caucásicos iberoamericanos, descendientes de europeos, puede vincularse a la progresión de la aterosclerosis.

MATERIAL Y METODO

Población

En este ensayo ingresó un total de 126 individuos argentinos (descendientes de europeos), todos ellos seleccionados por tipificación molecular a partir del complejo mayor de histocompatibilidad humana HLA A, B, DRB y DQB, admitidos en la unidad coronaria de nuestra institución por padecer un síndrome coronario agudo con documentación de una alteración transitoria del segmento electrocardiográfico ST entre abril de 1996 y abril de 1998.

De todos ellos se obtuvo consentimiento informado para realizar análisis bioquímicos adicionales.

El diagnóstico del evento isquémico requirió, además de los cambios eléctricos señalados, dos juegos que demostraran químicamente necrosis celular miocárdica, ya sea por la banda miocárdica de creatinquinasa y/o por elevaciones cuantitativas de la proteína troponina T. Debido a que una selección impropia de la población control puede influir seriamente este tipo de análisis, es preciso identificar sujetos que conformen una población homogénea tanto genética como étnicamente. A fin de evitar ese lamentable error que muy frecuentemente invalida la búsqueda de potenciales marcadores biológicos en cualquier área de la cardiología, se extremó la selección de la población, incluso por sus antecedentes isquémicos basales, como se detalla a continuación.

Del presente análisis se excluyeron los pacientes con:

1. cirugía de *bypass* previo = 27;
2. angioplastia previa = 44;
3. daño celular cerebral de cualquier magnitud = 2;
4. claudicación intermitente por afección aterosclerótica en los miembros inferiores = 13;
5. cualquier otra condición médica que requiriera la utilización de esteroides, reposición hormonal, antibióticos = 20;
6. infarto de miocardio previo, ocurrido dentro de los 180 días previos a la admisión del evento calificante o, incluso, la coexistencia de angina crónica y estable = 36.

Finalmente, 19 pacientes se separaron en dos grupos. El grupo 1 (9 pacientes) comprendió sólo aquellos que tuvieron un único antecedente de infarto de miocardio en el pasado no seguido por ninguna evidencia de manifestación crónica de isquemia hasta el evento presente, supuesto como anginoso de

tipo IIIb 1 o 2 o 3. (10) El grupo 2 comprendió 10 pacientes sin ninguna evidencia de isquemia o necrosis tisular en ningún tejido en el pasado hasta la admisión actual.

Un total de 100 sujetos sirvieron de control para este ensayo, pertenecientes a una misma comunidad en la Argentina, denominados recientemente caucásicos iberoamericanos, (11) a fin de obtener al máximo un control genéticamente similar aplicando la misma tipificación utilizada a través del complejo HLA. En forma adicional, 20 sujetos controles similares se agregaron a los anteriores a fin de analizar el polimorfismo de las citoquinas.

Análisis del complejo mayor de histocompatibilidad e identificación genotípica de las citoquinas involucradas

De cada uno de los participantes se obtuvo una muestra de sangre venosa (10 ml) recolectada en tubos que contenían 50 mmol/L de EDTA, y para el genoma purificado de DNA, leucocitos aislados en una concentración de 25-200 ng/ μ l.

Tipificación del HLA

Todos los pacientes, incluidos los sometidos a esta selección, fueron evaluados con la aplicación de una tipificación molecular de baja resolución para HLA A, B, DRB y DQB con el método PCR-SSO (reacción en cadena de la polimerasa de secuencia oligonucleotídica específica [Lifecodes Corp., US]).

Las amplificaciones para HLA-A, B, DRB y DQB se condujeron con la aplicación de *primers* (cebadores) con *locus* específicos.

Estos *primers* específicos amplifican fragmentos de DNA de forma tal que permiten el análisis completo de la presentación polimórfica de los exones 2 y 3 de los alelos del HLA de clase II.

En nuestro laboratorio se realizaron 30 reexaminaciones para la tipificación del HLA-A, 46 para el HLA-B, 35 para el DRB y 20 para el DQB. La amplificación del DNA se realizó sobre técnicas tradicionales con unión irreversible a membranas UV. También se aplicaron los estudios de hibridación estándar no radiactiva y pruebas con oligonucleótidos específicos conjugados con fosfatasa alcalina y clorhidrato de tetramilamonio para los lavados corres-

pondientes, a fin de visualizar los híbridos sobre películas autorradiográficas.

Análisis del polimorfismo de las citoquinas

Este análisis se efectuó sobre la base de una reacción en cadena de la polimerasa específica de alelo (PCR-SSP [Ones Lambda Cytokine Genotype Tray]) para TNF- α , TGF- β 1, IFN- γ e IL-10.

Para la detección del polimorfismo en la región del promotor de las citoquinas TNF- α e IL-10, del primer intrón del IFN- γ , así como de la secuencia de las señales para los genes de TGF- β 1, se utilizaron los métodos convencionales de PCR. Los pares de los *primers* se diseñaron habiendo obtenido una correlación perfecta entre un alelo único y un grupo de ellos. En condiciones estrictas de la reacción en cadena de la polimerasa se obtuvo la secuencia amplificada en forma positiva, mientras que la discordancia detectada entre los pares de *primers* no permitió que se amplificaron en forma apropiada (resultado negativo) (Figura 1).

Siguiendo el proceso de la reacción en cadena de la polimerasa, los fragmentos de DNA amplificados se separaron en gel de agarosa por electroforesis y se visualizaron por tinción para ser expuestos de inmediato a rayos ultravioleta.

Adicionalmente a ello, cada par de *primers* utilizados como control fueron sometidos a reacción en cadena de la polimerasa. Este *primer* preserva la región del gen *human β -globin*, el cual habitualmente está presente en todas las muestras de DNA, las cuales permiten verificar la integridad de la reacción de la polimerasa.

Análisis estadístico

Los datos clínicos se compararon entre grupos por una prueba de contingencia (chi cuadrado). Se aplicó la prueba exacta de Fisher cuando fuera aplicable. Los resultados de los genotipos de las citoquinas investigadas se compararon entre grupos y controles. Los individuos con un genotipo A/A o G/A para el gen TNF- α (región promotora en posición -308), T/T G/G o T/C G/G para el gen TGF- β (señal de secuencia del cordón 10 y el cordón 25), GCC/GCC para el gen de la IL-10 (región promotora en posición -1082, -819 y -592), G/G o G/C para el

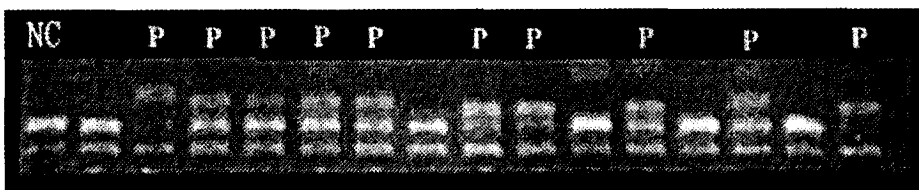


Fig. 1. La foto describe el *set* del *primer* que contiene 15 mix incluido el control negativo (NC) de un paciente. Se señala con la letra P la amplificación.

gen IL-6 y T/T para el gen IFN- γ (primer intrón) se consideraron los más altos productores de citoquinas (fenotipo H). Los individuos con genotipo G/G para el gen TNF- α (región promotora en posición -308), C/C G/C, C/C, C/C, T/T C/C o T/C C/C para el gen TGF- β 1 (señal de secuencia del codón 10 y el codón 25), ACC/ACC, ACC/ATA o ATA/ATA para el gen IL-10 (región promotora en posición -1082, -819 y -592), C/C para el gen IL-6 y A/A para el gen IFN- γ (primer intrón) se consideraron los más bajos productores de citoquinas (fenotipo L). Aquellos con el genotipo T/C G/C, C/C/ G/G o T/T G/C para el gen TGF- β (señal de secuencia del codón 10 y el codón 25), GCC/ACC o GCC/ATA para el gen de la citoquina IL-10 (región promotora en posición -1082, -819 y -592) y T/A para el gen IFN- γ (primer intrón) se presumieron productores intermedios de citoquinas (fenotipo I).

Los pacientes con los fenotipos H, I y L en cada grupo se compararon con los controles que tenían una producción hereditaria alélica similar, a través de la prueba de chi cuadrado. Los valores de $p < 0,05$ se consideraron estadísticamente significativos.

RESULTADOS

En el presente ensayo no hubo diferencias estadísticamente significativas en términos de edad o sexo. Tampoco se apreciaron diferencias entre grupos en relación con los factores de riesgo convencionales (datos no incluidos en las tablas).

Luego de un año de seguimiento, todos los enfermos del grupo 1 requirieron rehospitalización debido a la recurrencia de la isquemia, mientras que ninguno de los que conformaron el grupo 2 presentó nuevos accidentes vasculares ($p = 0,001$).

Se encontró, en cambio, una diferencia estadísticamente significativa en cuanto a la distribución alélica del antígeno HLA B44 entre el grupo 1 y los controles ($p = 0,04$), así como del HLA DR β 1-07 entre el grupo 2 y los controles ($p = 0,01$) (Tablas 1 y 2).

Ninguno de los pacientes del grupo 1 presentó rasgos de altos productores (H) para TNF- α versus 8 pacientes (40%) entre los controles ($\chi^2 = 4,97$; $p = 0,03$); 7 (78%) TGF- β 1 H en el grupo 1 versus 8 (40%) en los controles ($\chi^2 = 3,54$; $p \leq 0,05$); 3 (33%), 1 paciente con IL-10H en el grupo 1 versus 3 (15%) en los controles ($\chi^2 = 1,27$; $p = 0,3$); 9 enfermos se presentaron como IL-6 H en el grupo 1 versus 19 (95%) entre los controles ($\chi^2 = 0,46$; $p = 1$) y 2 pacientes (22%) IFN- γ H en el grupo 1 versus 3 (15%) entre los controles ($\chi^2 = 0,22$; $p = 0,6$) (Tabla 3).

En el grupo 2, en comparación con los controles, hubo 8 (80%) altos productores de TNF- α (H) versus 12 (60%) entre los sujetos aparentemente normales ($\chi^2 = 1,2$; $p = 0,2$); 7 (70%) TGF- β 1 H entre los enfermos del grupo 2 contra 8 (40%) de los controles (χ^2

Tabla 1
HLA B en el grupo 1 y la población general

Locus B	Grupo 1 n	Control n	Chi
07	0	21	1,150956768
08	0	14	0,73373494
13	1	5	2,063629518
64	1	4	2,784223284
65	0	18	
62	0	20	1,089003145
72	0	4	0,197306875
70	0	0	
71	0	1	0,048471342
63	0	2	0,097506304
18	2	24	0,667378454
27	0	12	0,621151272
35	2	40	0,003403223
37	0	3	0,147114775
38	0	10	0,511313547
39	0	21	1,150956768
60	0	8	0,404122514
61	1	10	0,540465263
4004	0	2	0,097506304
41	0	4	0,197306875
45	0	0	
44+	4	29	5,255156021
45	0	2	0,097506304
47	0	2	0,097506304
48	0	5	0,248092964
49	1	5	2,063629518
50	0	6	0,299483649
51	1	18	0,021533332
52	1	4	2,784223284
53	1	5	2,063629518
55	0	3	0,147114775
56	0	1	0,048471342
57	0	6	0,299483649
58	0	6	0,299483649
81	1	0	20,8699422
B	0	17	0,907988642
Total	8*	166	

* No se obtuvo un resultado apropiado de este sujeto.

† $p = 0,04$.

Tabla 2
HLA DR β 1 en el grupo 2 y la población general

Locus DR β 1	Grupo 2 n	Población general n	Chi
01	4	33	2,299751915
15	0	30	2,178577323
16	3	9	8,968086982
03011	1	25	0,191822057
0302	0	0	
04	2	49	0,415182046
11	2	46	0,282730924
12	0	2	0,121866777
13	2	38	0,044904323
14	0	11	0,706827309
07*	6	34	8,387129695
08	0	23	1,593826286
09	0	5	0,310011978
10	0	6	0,374202693
B	0	21	1,436455499
Total	10	166	

* $p = 0,01$.

Tabla 3
Polimorfismo genético de las citoquinas y sus valores del grupo 1 en comparación con controles

Citoquina	Genotipo	Fenotipo	Grupo 1 9 (%)	Control 20 (%)	Chi	p
TNF α	G/G	Low	9 (100)	12 (100)	4,97	0,03
	G/A A/A	High	0 (0)	8 (40)	4,97	0,03
TGF β 1	T/T G/G	High	7 (78)	8 (40)	3,54	0,05
	T/C G/G T/C G/G	Int	2 (22)	8 (40)	0,86	0,4
	C/C G/G T/T G/G C/C G/C C/C C/C	Low	0 (0)	4 (20)	2,08	0,2
IL-10	T/T C/C GCC/GCC	High	3 (33)	4 (15)	1,27	0,3
	GCC/ACC GCC/ATA	Int	3 (33)	11 (55)	1,16	0,4
	ACC/ACC ACC/ATA ATA/ATA	Low	3 (33)	6 (30)	0,03	1
IL-6	G/G	High	9 (100)	19 (95)	0,46	1
	G/C C/C	Low	0 (0)	1 (5)	0,46	1
IFN γ	T/T	High	2 (22)	3 (15)	0,22	0,6
	T/A	Int	4 (44)	11 (55)	0,27	0,6
	A/A	Low	3 (33)	6 (30)	0,03	1

Low: Bajo. Int: Intermedio. High: Alto.

= 2,4; p = 0,3); 1 paciente (10%) IL-10 L entre el grupo 2 versus 3 (15%) de los controles (chi = 0,14; p = 1); 9 sujetos (90%) IL-6 H del grupo 2 versus 19 (95%) entre los controles (chi = 0,26; p = 0,2); 2 pacientes se

presentaron como IFN- γ H en el grupo 2 versus 3 (15%) en los controles (chi = 0,12; p = 1) y 2 (20%) IFN- γ I en el grupo 2 versus 11 (55%) en los controles (chi = 3,32; p = 0,04) (Tabla 4).

Tabla 4
Polimorfismo genético de las citoquinas y sus valores del grupo 2 en comparación con controles

Citoquina	Genotipo	Fenotipo	Grupo 2 10 (%)	Control 20 (%)	Chi	p
TNF α	G/G	Low	8 (80)	12 (60)	1,2	0,6
	G/A	High	2 (20)	8 (40)	1,2	0,2
	A/A					
TGF β 1	T/T G/G	High	7 (70)	8 (40)	2,4	0,3
	T/C G/G T/C G/C	Intermediate	3 (30)	8 (40)	0,28	0,6
	C/C G/G T/T G/C C/C G/C C/C C/C T/T C/C T/C C/C	Low	0 (0)	4 (20)	2,3	0,2
IL-10	GCC/GCC	High	1 (10)	3 (15)	0,14	1
	GCC/ACC	Intermediate	8 (80)	11 (55)	1,79	0,4
	GCC/ATA ACC/ACC ACC/ATA ATA/ATA	Low	1 (10)	6 (30)	1,49	0,3
IL-6	G/G	High	9 (90)	19 (95)	0,26	0,2
	GC C/C	Low	1 (10)	1 (5)	0,26	1
IFN γ	T/T	High	2 (20)	3 (15)	0,12	1
	T/A	Intermediate	2 (20)	11 (55)	3,32	0,04
	A/A	Low	6 (60)	6 (30)	2,5	0,2

Low: Bajo. Int: Intermedio. High: Alto.

DISCUSION

En el presente ensayo encontramos que todos los pacientes que desarrollaron un nuevo evento ateroesclerótico sintomático en el curso del primer año de seguimiento luego de la admisión en nuestro hospital fueron aquellos que tenían previamente documentado un infarto de miocardio. Contrariamente a éstos, aquellos en quienes un accidente isquémico motivó su internación en el hospital, seleccionados para este estudio por no tener antecedentes vasculares previos, no reprodujeron otros eventos en el mismo lapso de seguimiento.

Estos resultados provenientes de una población extremadamente seleccionada pueden tener diversas implicaciones.

La producción de citoquinas se encuentra bajo control genético. La herencia de diferentes polimorfismos en los genes de estas citoquinas (12) conduce a la identificación de variaciones individuales, particularmente en la respuesta inmunitaria de estos sujetos. En este sentido, vale la pena mencionar que los sitios genéticos donde residen los diversos rasgos polimórficos son esencialmente los primeros intrones, la secuencia de señales y las regiones de la estructura del promotor de estos genes (6, 13) (Figura 2).

Entre las diferentes citoquinas, algunas parecen asociarse fuertemente con el proceso ateroesclerótico, (14) como el TNF- α , el INF- γ y el TGF- β 1, las cuales facilitan además la expresión de los antígenos leucocitarios explorados en este ensayo (HLA).

Durante el estudio, los individuos con un polimorfismo de altos productores de citoquinas del gen codificante de la citoquina TGF- β 1, bajos productores de TNF- α y una presentación alélica del antígeno HLA B44 fueron más proclives al desarrollo de accidentes coronarios subsiguientes en comparación con los controles étnicamente similares.

Es probable que éste sea el primer ensayo con una particular presentación genotípica de sujetos con carga isquémica previa.

Algunos pacientes experimentan remisiones de

sus síntomas durante un período prolongado, mientras que otros manifiestan síntomas reiteradamente y cuyo control es en extremo complejo. Por lo tanto, estas presentaciones clínicas, en la presunción de que la aterosclerosis posee un fuerte componente inflamatorio, podrían asociarse con un mosaico genético particular constituido por los genotipos que difieren como las mismas presentaciones clínicas, una forma agresiva de presentación ligada a una producción elevada de TGF- β 1 y baja de TNF- α y una presentación clínica más atenuada vinculada a una producción intermedia de INF- γ ligada a una modulación adecuada de estas citoquinas.

Algunos autores especularon que la secreción de citoquinas en el plasma, como el TNF- α y el INF- γ , pueden incrementarse con el desarrollo de enfermedad coronaria y facilitar la agresividad de la aterosclerosis. (15)

Otros autores comunicaron divergencias en relación con un desarrollo avanzado de la enfermedad ateroesclerótica y niveles plasmáticos bajos de una citoquina activa como el TGF- β en sujetos con angiogramas coronarios aparentemente normales. (16, 17)

De todos modos, las concentraciones plasmáticas de estas citoquinas activas como el TGF- β 1 pueden ser afectadas por varios factores, en particular durante la etapa biológica de coagulación. La posterior disolución de un coágulo por efecto de la plasmina puede dar por resultado la liberación y la activación de la citoquina TGF- β 1. (18)

Por lo tanto, las diferencias entre la circulación y la concentración plasmática de citoquinas entre individuos puede no necesariamente correlacionarse con el polimorfismo genético de la región promotora de esas mismas citoquinas.

Recientemente, algunos autores encontraron una relación particular entre el polimorfismo genético de la citoquina TGF β 1 y la prevalencia de infarto de miocardio en Francia, (19) y otros hallaron un rasgo sumamente opuesto al mencionado entre hombres japoneses. (20)

En esos estudios, los investigadores no obtuvieron una clara asociación entre el polimorfismo hallado en el promotor de los genes involucrados con las concentraciones séricas de dichas citoquinas.

Limitaciones del presente trabajo

Ante lo mencionado previamente, en esta investigación no recolectamos datos sobre la concentración plasmática de los intermediarios biológicos de estos productos derivados de los genes analizados a fin de saber si el fenotipo clínico concordaba o no con las concentraciones plasmáticas de nuestra población caucásica iberoamericana residente en la ciudad de Buenos Aires.

Presumimos que, a la luz de las presentes eviden-

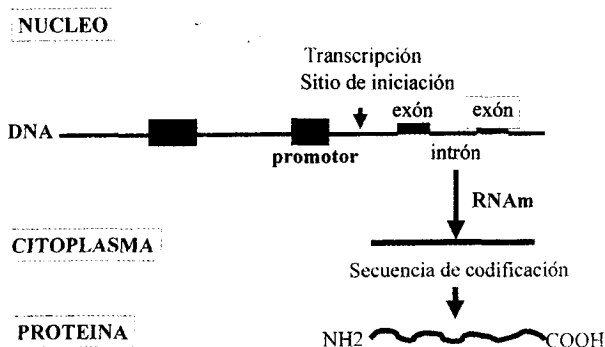


Fig. 2. El gen.

cias, varias células están implicadas en la aterosclerosis y su progresión, lo cual afecta estos vínculos biológicos. Asimismo, decidimos estudiar varias citoquinas más el complejo mayor de histocompatibilidad humana suponiendo que podría ser extremadamente simplista presumir que un fenómeno único, en este caso una simple citoquina, pudiera estar implicada en el desarrollo y la perpetuación del proceso aterosclerótico.

Es así que efectuamos un análisis de un panel de promotores de citoquinas y de antígenos del complejo HLA que reveló que éstos parecen modular la presentación clínica del cuadro coronario, al menos en estos caucásicos argentinos (descendientes de europeos) que padecen de aterosclerosis sintomática.

Debido a las restricciones para hallar un grupo control balanceado por la edad sin factores tradicionales de riesgo conocidos, no pudimos aplicar la fórmula de equilibrio de Hardy-Weinberg, lo cual limita, junto con el bajo número de pacientes, el poder estadístico de este ensayo.

De todos modos, es importante señalar que el presente trabajo no tiene el objetivo de alcanzar un análisis epidemiológico, desde el momento que excluimos a la gran mayoría de los individuos habitualmente incluidos o "etiquetados" como ateroscleróticos por definiciones tradicionales.

No obstante, estos datos sugieren, al menos, que seleccionados ciudadanos argentinos, mayormente descendientes de caucásicos europeos, considerados altos productores de citoquina TGF- β 1, bajos productores de TNF- α y con la peculiar presencia de un antígeno como el HLA B44, tuvieron un número mayor de accidentes cardiovasculares en comparación con individuos étnicamente homogéneos.

SUMMARY

GENERIC POLYMORPHISM OF CYTOKINES AND ALLELIC DISTRIBUTION OF HLA SYSTEM AMONG SOME CORONARY PATIENTS, DESCENDENTS OF EUROPEANS IN ARGENTINE

Aims

To test the hypothesis that the antigens in MHC class I and II, and the polymorphisms of genes encoding the cytokines located in the promoter region of TNF- α and IL-10, the signal sequence of TGF- β 1, and the first intron of IFN- γ are associated with evidences of past, present, and future atherosclerosis in some European descendents living in South America.

Material and results

Unstable angina patients were allocated either in

Group 1 (subjects with a prior myocardial infarction in the past 12 months), or Group 2 (subjects without any prior tissue necrosis). Over one hundred control subjects were chosen from a similar sample of the population to establish their HLA allele distribution. At one-year follow-up, all of the patients in Group 1 required hospitalization because of the recurrence of ischemia, while none of the patients in Group 2 ($p = 0.001$) did. We found statistically significant differences in HLA B44 allele distribution between Group 1 and controls ($p = 0.04$), and in HLA DR B1-07 allele distribution between Group 2 and controls ($p = 0.01$). There were no TNF- α high producers in Group 1 compared to 8 (40%) in controls ($p = 0.03$), TGF- β 1 high producers in Group 1 were 7 (78%) vs. 8 (40%) in controls ($p < 0.05$).

Conclusions

Our results suggest that some European descendents in Argentina, with genotype highly producer of cytokine TGF- β 1, low producer of the cytokine TNF- α , and including a HLA B44 allele, were more likely to have subsequent atherosclerotic episodes than control individuals of the same ethnicity.

Key words Gene polymorphism - Atherosclerosis - Cytokines - Unstable angina

BIBLIOGRAFIA

1. Van Bockxmeer FM, Mamotte CD. Apolipoprotein E4 homozygosity in young men with coronary heart disease. *Lancet* 1992; 340: 879-880.
2. Pober JS, Cotran R. Cytokines and endothelial cell biology. *Physiol Rev* 1990; 70: 427-451.
3. Gurfinkel E, Bozovich G, Daroca A y col, for the ROXIS Study Group. Randomized trial of roxithromycin in non-Q-wave coronary syndromes. ROXIS pilot study. *Lancet* 1997; 350: 404-407.
4. Turner D, Grant SC, Yonan N y col. Cytokine gene polymorphism and heart transplant rejection. *Transplantation* 1997; 64: 776-779.
5. Wilson AG, di Giovine FS, Blakemore AI y col. Single base polymorphism in the human tumour necrosis factor alpha (TNF α) gene detectable by NcoI restriction of PCR product. *Hum Mol Genet* 1992; 1: 353.
6. Turner DM, Williams DM, Sankaran D y col. An investigation of polymorphism in the interleukin-10 gene promoter. *Eur J Immunogen* 1997; 24: 1-8.
7. Pober JS, Cotran RS. The role of endothelial cells in inflammation. *Transplantation* 1990; 50: 537-544.
8. Mosman TR. Properties and functions of interleukin-10. *Adv Immunol* 1994; 56: 1-26.
9. Danis VA, Millington M, Hyland VJ y col. Cytokine production by normal human monocytes: Inter-subject variation and relationship to an IL-1 receptor antagonist (IL-1Ra) gene polymorphism. *Clin Exp Immunol* 1995; 99: 303-310.
10. Hamm CW, Braunwald E. A classification of unstable angina revisited. *Circulation* 2000; 102: 118-122.
11. Raimondi E, Gurfinkel E, Bozovich G y col. Coronary artery disease in Argentina. *En: Gjerston DW, Terasaki PJ* (eds). New York, USA, HLA American Society for Histocompatibility and Immunogenetic; 1998.
12. Hutchinson IV, Turner D, Sankaran D y col. Cytokine geno-

- types in allograft rejection: Guidelines for immunosuppression. *Transplantation Proceedings* 1998; 30: 3991-3992.
13. Awad MR, El-Gamel A, Hasleton P y col. Genotypic variation in the transforming growth factor-beta 1 gene: Association with transforming growth factor-beta 1 production, fibrotic lung disease, and graft fibrosis after lung transplantation. *Transplantation* 1998; 66: 1014-1020.
 14. Libby P. Do vascular wall cytokines promote atherogenesis? *Hosp Pract* 1992; 27: 51-58.
 15. Vaddi K, Nicolini FA, Mehta P y col. Increased secretion of tumor necrosis factor alfa and interferon gamma by mononuclear leukocytes in patients with ischemic heart disease. Relevance in superoxide anion generation. *Circulation* 1994; 90: 694-699.
 16. Grainger DJ, Kemp PR, Metcalfe JC y col. The serum concentration of active transforming growth factor- β is severely depressed in advanced atherosclerosis. *Nat Med* 1995; 1: 74-79.
 17. Tashiro H, Shimokawa H, Yamamoto K y col. Altered plasma levels of cytokines in patients with ischemic heart disease. *Coron Artery Dis* 1997; 8: 143-147.
 18. Grainger DJ, Wakefield L, Bethell HW y col. Release and activation of platelet latent TGF β in blood clots during dissolution with plasmin. *Nat Med* 1995; 1: 932-937.
 19. Cambien F, Ricard S, Troesch A y col. Polymorphisms of the transforming growth factor β 1 gene in relation to myocardial infarction and blood pressure. ECTIM Study. *Hypertension* 1996; 28: 881-887.
 20. Yokota M, Ichihara S, Lin TL y col. Association of a T29 C polymorphism of the transforming growth factor- β 1 gene with genetic susceptibility to myocardial infarction in Japanese. *Circulation* 2000; 101: 2783-2787.



XIII Congreso Argentino de Biología y Medicina Nuclear

1ra. Jornada de Países del Mercosur de Biología y Medicina Nuclear

Buenos Aires, 2 al 4 de noviembre de 2001

Círculo de Oficiales de Mar, Sarmiento 1865, Buenos Aires, Argentina

COMITE ORGANIZADOR

Presidente: Dr. Oscar Parysow - Vicepresidente: Dr. Silvio Schneck
 Secretaria: Dra. Graciela Melado - Prosecretaria: Dra. Victoria Soroa - Tesorera: Dra. Silvia Lockhart - Protesorero: Dr. Hugo Croci - Vocales: Dr. Sergio Nijensohn, Dr. Adrián Pisterman

COMITE CIENTIFICO

Presidente: Dr. Daniel Schere - Integrantes: Asociación Argentina de Cardiología Nuclear

CURSO "B" (Precongreso)
Director: Dr. Sergio Nijensohn
Jueves 1 de noviembre de 2001
Lugar: Instituto Sacre Coeur
Paraguay 3128, Buenos Aires

TEMARIO:

- 10:00: **Inscripción**
 10:30: **Introducción a la Cardiología Nuclear**
 Dr. Miguel Guzzo
 11:00: **SPECT Cardíaco** - Dr. Víctor Mártire
 11:45: **GATED-SPECT** - Dr. Sergio Nijensohn
 12:30 a 13:00: **MESA DE DEBATE**
 13:00 a 14:00: **LUNCH**
 14:15 a 15:00: **MOSTRACION DE CASOS**
 15:00: **Corrección de atenuación** - Dr. Adrián Pisterman
 15:30: **Pronóstico en angina crónica** - Dr. Horacio del Riego
 16:00: **Pronóstico en síndromes isquémicos agudos**
 Dra. Susana Zeffiro
 16:30: **Viabilidad miocárdica: Talio vs. Gated-SPECT**
 Dr. Fernando Otero

PROGRAMA CIENTIFICO (CARDIOLOGIA NUCLEAR)

VIERNES 2 DE NOVIEMBRE 2001

- 15:30 a 17:00: **Simposio Cardiología Nuclear I**
 Mesa Redonda: "Viabilidad miocárdica: de la teoría a la práctica clínica".
 17:00 a 18:00: Conferencia Dr. Jamshid Maddahi: "Gated SPECT: utilidad clínica".
 18:00 a 19:00: Mesa Redonda: "Utilidad de los estudios de perfusión en la determinación de pacientes para prevención primaria y secundaria".

SABADO 3 DE NOVIEMBRE

- 8:00 a 9:00: **Simposio Cardiología Nuclear II**
 Mesa Redonda: "Determinación del diagnóstico y pronóstico en cardiopatía isquémica aguda y crónica".
 9:00 a 10:30: Conferencia Dr. Jamshid Maddahi: "Análisis de costo efectividad en Cardiología Nuclear".

DOMINGO 4 DE NOVIEMBRE

- 8:00 a 11:00: **Lectura interactiva de casos con expertos**

INVITADOS EXTRANJEROS

Dr. Carl Muñoz Ferrada (Australia); Dra. Monica Rossleigh (Australia); Dra. Constanza Pagano (Brasil); Dr. Carlos Buchpiguel (Brasil); Dr. Len Wiebe (Canadá); Dra. Pilar Orellana (Chile); Dr. Davis Groshar (Israel); Dr. Marco Chinol (Italia); Dr. Fernando Mut (Uruguay); Dr. Eduardo Touyá (Uruguay); Dr. Omar Alonso (Uruguay); Dr. Javier Gaudiano (Uruguay); Dr. Alan Waxman (USA); Dr. Jamshid Maddahi (USA).

INSCRIPCIONES: ASOCIACION ARGENTINA DE BIOLOGIA Y MEDICINA NUCLEAR

Bulnes 1878, 6º "23", Buenos Aires. Tel/Fax (5411) 4827-2340
 email: correo@aabymn.org.ar - web: www.aabymn.org.ar