
DISTRIBUCIÓN DE POLIMORFISMOS GENÉTICOS DE INTERLEUQUINA-1 EN INDIVIDUOS DE LA REGIÓN CENTROCCIDENTAL DE VENEZUELA

Distribution of Interleukin-1 Genetic Polymorphisms in Central-Western Region Individuals of Venezuela

YEINMY MORAN¹, B.Sc.; MIRYAN CAÑAS¹, Biólogo;
PEDRO GRIMÁN¹, B.Sc.; MARÍA CAMARGO¹, TSU; MARÍA BELÉN
RIVERO¹, Ph. D.; MIGUEL ANGEL CHIURILLO¹, Ph. D.

¹Laboratorio de Genética Molecular "Dr. Jorge Yunis-Turbay".
Decanato de Ciencias de la Salud, Universidad Centroccidental
Lisandro Alvarado (UCLA). Barquisimeto, Venezuela.

Correspondencia: Miguel Angel Chiurillo. Laboratorio de Genética
Molecular "Dr. Jorge Yunis-Turbay". Decanato de Ciencias de la Salud,
Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado (UCLA). Barquisimeto,
Avenida Libertador. 3001. Estado Lara, Venezuela.

Fax: (58) 251 25918 86. mchiurillo@ucla.edu.ve

Presentado 17 de diciembre de 2008, aceptado 15 de enero de 2009, correcciones 19 de febrero de 2009

RESUMEN

Las citoquinas pertenecientes a familia de la interleuquina-1 (IL-1) están codificadas por tres genes diferentes: IL-1A, IL-1B, e IL-1RN, los cuales codifican para IL-1 α , IL-1 β , y el antagonista endógeno del receptor de IL-1 (IL-1ra), respectivamente. Las IL-1 α e IL-1 β actúan como citoquinas pro-inflamatorias, mientras que la IL-1ra se comporta como antiinflamatoria. Han sido reportados varios polimorfismos bialélicos en los genes de IL-1B, incluyendo IL-1B-511(C/T) e IL-1B+3954(C/T), mientras que IL-1RN presenta en el intrón 2 un polimorfismo VNTR penta-alélico. Los polimorfismos funcionalmente relevantes de estos genes han sido correlacionados con un amplio conjunto de condiciones autoinmunes e inflamatorias crónicas, así como con cáncer. Con el fin de determinar la distribución de estos polimorfismos en la región centroccidental de Venezuela, se estudiaron 100 individuos no relacionados aparentemente sanos. Se extrajo ADN genómico a partir de sangre periférica, y se procedió a la tipificación de los polimorfismos IL-1B-511 e IL-1B+3954 por PCR-RFLP y VNTR de IL-1RN por PCR. Se determinaron las frecuencias alélicas y genotípicas con el programa Arlequín ver. 2.000. Se observó un predominio del alelo T (52%) y del alelo C (82%) en IL-1B-511 y IL-1B+3954, respectivamente. Mientras que para IL-1RN los genotipos más frecuente fueron el 1/1 (47%) y 1/2 (41%). Se compararon los resultados con las frecuencias poblacionales encontradas en otros países, destacándose diferencias significativas con poblaciones de diferente origen étnico. Los resultados podrían proporcionar una referencia valiosa para estudios futuros de asociación con cáncer y enfermedades inflamatorias en Venezuela.

Palabras clave: interleuquina-1, IL-1B, IL-1RN, polimorfismos genéticos.

ABSTRACT

The cytokines belonging to the family of interleukin-1 (IL-1) are encoded by three different genes: IL-1A, IL-1B, and IL-1RN, which encode for IL-1 α , IL-1 β and the endogenous receptor antagonist for IL-1 (IL-1Ra), respectively. IL-1 α and IL-1 β operate as pro-inflammatory cytokines, while the IL-1Ra as anti-inflammatory. It has been reported several biallelic polymorphisms in the genes of IL-1B, including IL-1B-511(C/T) and IL-1B+3954(C/T), while IL-1RN presents in intron 2 a penta-allelic VNTR polymorphism. The functionally relevant polymorphisms of these genes have been correlated with a wide range of chronic inflammatory and autoimmune conditions, as well as cancer. In order to determine the distribution of these polymorphisms in the Central-Western region of Venezuela, 100 unrelated apparently healthy individuals were studied. DNA was extracted from peripheral blood, and proceeded to the characterization of polymorphisms IL-1B-511 and IL-1B +3954 by PCR-RFLP and VNTR IL-1RN by PCR. Allelic and genotypic frequencies were determined with the program Arlequin v. 2.0. There was a predominance of T allele (52%) and the C allele (82%) for IL-1B-511 and IL-1B +3954, respectively. While for IL-1RN the more frequent genotypes were 1/1 (47%) and 1/2 (41%). We compare the results with the population frequencies found in other countries, highlighting differences with significant populations of different ethnic origin. These results could provide a valuable reference for future studies of association with cancer and inflammatory diseases in Venezuela.

Key words: Interleukin-1, IL-1B, IL-1RN, genetic polymorphisms.

INTRODUCCIÓN

El genoma humano revela que muchos de los genes contenidos en él, son polimórficos. En las regiones codificantes y no codificantes de un gen en particular pueden ocurrir sustituciones de un nucleótido por otro (SNPs) o variaciones en el número de repeticiones de secuencias cortas de ADN (VNTR). Las interacciones entre los genes y el ambiente se pueden manifestar de diferentes maneras, bien por el riesgo basado en el genotipo de cada individuo, o por riesgo originado por la exposición al ambiente de esos genes polimórficos (Iannuzzi *et al.*, 2002). El estudio de los polimorfismos genéticos promete ayudar a definir los mecanismos fisiopatológicos, para identificar individuos en riesgo de sufrir enfermedades y sugerir blancos novedosos para tratamiento farmacológico.

Las citoquinas son moléculas de señalización que contribuyen a la respuesta inflamatoria, y son componentes claves en la patogénesis de muchas enfermedades como el cáncer, desórdenes metabólicos y condiciones inflamatorias. El grupo de citoquinas de la interleuquina-1 (IL-1) incluye tres citoquinas diferentes: Interleuquina-1 α (IL-1 α), IL-1 β y el antagonista del receptor de IL-1 (IL-1Ra). La IL-1 β , cuyo gen (IL-1B) se localiza en el cromosoma 2q12, es un potente agente pro-inflamatorio cuya partici-

pación es relevante en inmunoregulación, inflamación y génesis de cáncer (Cantagrel *et al.*, 1999). Mientras que el IL-1Ra, una variante estructural de IL-1, se une al mismo receptor que IL-1 y actúa como un inhibidor competitivo de la bioactividad de IL-1. Han sido reportados varios polimorfismos bialélicos en los genes de IL-1 β , incluyendo IL-1B-511 e IL-1B+3954 (Fig. 1). Por otra parte, en el segundo intrón del gen IL-1RN, se ubica un polimorfismo penta-alélico funcional producto de variaciones en el número de repeticiones en tanda (VNTR), el cual se caracteriza por poseer un papel importante en la regulación de los niveles de IL-1Ra, la respuesta inmune humana y el riesgo de cáncer (Hu *et al.*, 2005). La IL-1 es conocida por actuar como un factor de crecimiento tumoral al inducir factores angiogénicos (Konishi *et al.*, 2005).

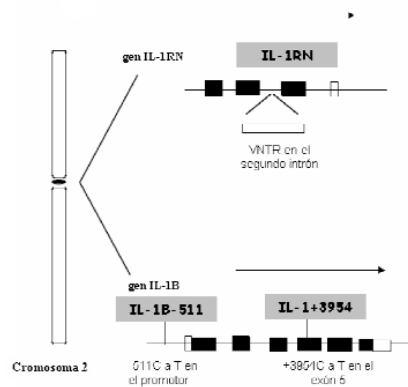


Figura 1. Representación esquemática del mapa de los genes de IL-1 analizados en este trabajo. Las flechas indican el sentido de la transcripción.

La variación genética en el genoma humano es un recurso emergente para el estudio del cáncer, un grupo complejo de enfermedades caracterizadas por contribuciones tanto genéticas como ambientales en su origen. El riesgo de cáncer está claramente influenciado por polimorfismos en genes involucrados en metabolismo de carcinógenos y el sistema inmune.

Sin embargo, la distribución de la frecuencia de los polimorfismos de ADN puede variar según el componente étnico de cada población humana, así entonces se puede explicar, en parte, la mayor predisposición de algunas poblaciones a ciertas enfermedades. Por ejemplo, varios investigadores han mostrado en diferentes grupos étnicos de todo el mundo, una fuerte asociación entre los polimorfismos pro-inflamatorios de IL-1 y el incremento del riesgo de desarrollar cáncer gástrico (Machado *et al.*, 2001; El-Omar *et al.*, 2003; Perez-Perez *et al.*, 2005). Sin embargo, varios reportes muestran diferencias en las correlaciones y resultados contradictorios, probablemente debido a la diversidad en el componente genético de las poblaciones humanas (Perez-Perez *et al.*, 2005; Wang *et al.*, 2006).

Este trabajo representa un estudio piloto en el análisis de variaciones de secuencias de ADN que son segregadas a una población y tienen una conexión casual con enfermedades complejas como el cáncer. Debido a que no hay muchos reportes de las variaciones alélicas del grupo de genes de IL-1 en nuestro país y, en particular, en

la región centroccidental del mismo, el presente estudio fue realizado para evaluar las frecuencias e iniciar la construcción de una base de datos de tres polimorfismos genéticos de IL-1 en esta región de Venezuela.

MATERIALES Y MÉTODOS

MUESTRAS

El estudio incluyó 100 individuos aparentemente sanos no relacionados (39 hombres y 61 mujeres) con un promedio de edad de 21,5 años (16-40 años) procedentes de los estados de la región centroccidental de Venezuela: Estados Lara, Portuguesa o Yaracuy. El estudio reunió los requerimientos éticos del comité del Decanato de Ciencias de la Salud-UCLA, y todos los participantes dieron su consentimiento informado por escrito. A cada uno de los individuos, con las características mencionadas, se le tomó aproximadamente 5 mL de sangre periférica, la cual fue recolectada en *vacutainers* que contenían EDTA como anticoagulante.

EXTRACCIÓN DE ADN

La extracción se realizó a partir de 300 μ L de sangre periférica mediante el *Wizard Genomic DNA Purification Kit* (Promega). La concentración del ADN de las muestras fue estimada por espectrofotometría a 260/280 nm de longitud de onda empleando un equipo GeneQuant pro (Amersham-Pharmacia).

ANÁLISIS DE POLIMORFISMOS DE IL-1

Todos los individuos fueron genotipificados para tres polimorfismos del grupo de genes de interleuquina-1: -511 en la región promotora de IL-1B, +3954 en el exón 5 de IL-1B, y el VNTR en el intrón 2 de IL-1RN. Algunos detalles de la metodología empleada en los análisis se presentan en la tabla 1. Para las amplificaciones por PCR se emplearon los iniciadores y condiciones descritas por Nemetz *et al.*, 2001, con algunas modificaciones (Tabla 1). Las reacciones de PCR contenían en un volumen de 25 μ L, Buffer 1X, 1,5 mM de MgCl₂, 200 μ M de dNTPs, 1 μ M de cada *primer* y 1,25 U de *Taq DNA Polymerase* (Invitrogen).

	IL-1B (región promotora)	IL-1B (exón 5)	IL-1RN
Tipo de polimorfismo	Sustitución de base C/T	Sustitución de base C/T	VNTR, 86 pb
Sitio del polimorfismo	-511	+3954	Intrón 2
Iniciadores para PCR			
Forward	GGCATTGATCTGGTTCATC	GTTGTCATCAGACTTTGACC	CCCCTCAGCAACACTCC
Reverso	GTTTAGGAATCTTCCCACTT	TTCAGTTCATATGGACCAGA	GGTCAGAAGGGCAGAGA
Condiciones de PCR			
Desnaturalización	94 °C, 45"	94 °C, 45"	94 °C, 30"
Anillamiento	57 °C, 45"	57 °C, 45"	57 °C, 30"
Extensión	72 °C, 45"	72 °C, 45"	72 °C, 20"
Número de ciclos	35	35	35
Digestión	AvaI	TaqI	-
Tamaño de alelos (pb)	C: 199 + 106 T: 305	C: 135 + 114 T: 249	1: 410, 2: 240, 3: 530, 4: 325, 5: 595

Tabla 1. Principales características de los polimorfismos de IL-1 β e IL-1RN estudiados y metodología para su análisis.

Los polimorfismos de IL-1B-511 y +3954 fueron determinados por PCR-RFLP. Los genotipos fueron asignados según el tamaño del producto de PCR (IL-1RN) o de los fragmentos de restricción generados al incubar con las enzimas de restricción (IL-1B-511 y +3954; Tabla 1), determinado por electroforesis en geles de agarosa al 2%, los cuales fueron teñidos con bromuro de etidio (1 mg/mL) y visualizados con luz ultravioleta en un equipo KODAK Gel Logic 200 Imaging System.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se evaluó el equilibrio Hardy-Weinberg, y el parámetro D' del desequilibrio de ligamiento empleando el programa Arlequín ver. 2.000. Se utilizó la prueba de Chi-cuadrado para comparar las frecuencias genotípicas y alélicas entre las poblaciones comparadas mediante el paquete estadístico SSPS 11.0. Las diferencias fueron consideradas estadísticamente significativas para valores de $p < 0,05$.

RESULTADOS

Las frecuencias genotípicas de los polimorfismos de IL-1B-511T/C, IL-1B+3954C/T, e IL-1RN fueron halladas en equilibrio Hardy-Weinberg. Por otra parte, no se observó un fuerte desequilibrio de ligamiento entre los alelos de los polimorfismos evaluados. Las frecuencias de los genotipos y los alelos encontradas en los polimorfismos del gen IL-1B (-511 y +3954) y de IL-1RN en los sujetos estudiados se presentan en las tablas 2, 3 y 4. Las frecuencias alélicas fueron las siguientes: 48% vs. 52%, 82% vs. 18% y 70%, 23 % y 3%, para los alelos C vs. T de IL-1B -511, C vs T de +3954 y 1, 2 y otros (3, 4 o 5) de IL-1RN, respectivamente. Mientras que la distribución porcentual de la frecuencia de genotipos fue: IL-1B-511, CC: 21%, CT: 55% y TT: 24%; IL-1B+3954, CC: 70%, CT: 25% y TT: 5%; e IL-1RN, 1/1: 47%, 1/2: 41%, 2/2: 5% y otros: 7%.

País o etnia	N.º	Genotipo (%)				Alelo (%)			Referencia
		CC	CT	TT	P	C	T	p	
Venezuela	100	21	55	24	Ref	48	52	Ref	Este trabajo
Portugal	218	46	40	14	***	66	34	**	Machado <i>et al.</i> , 2001
Norte de la India	206	24	61	15	NS	55	45	NS	Manchanda <i>et al.</i> , 2005
España	81	32	49	19	NS	57	43	NS	Pastor <i>et al.</i> , 2005
China	361	34	48	18	*	58	42	NS	Zeng <i>et al.</i> , 2003
Taiwan	103	29	47	24	NS	53	47	NS	Tsai <i>et al.</i> , 2004
Corea	126	26	56	18	NS	54	46	NS	Lee <i>et al.</i> , 2004
Holanda	256	58	36	6	***	76	24	***	Stokkers <i>et al.</i> , 1998
Japón	160	27	49	24	NS	52	48	NS	Nishimura <i>et al.</i> , 2002
Egipto	72	37	41	22	*	58	42	NS	Hegab <i>et al.</i> , 2005
Afroamericanos	294	20	53	27	NS	47	53	NS	Zabaleta <i>et al.</i> , 2008
Estados Unidos (Caucásicos)	124	35	50	15	*	66	34	**	Cantagrel <i>et al.</i> , 1999

Tabla 2. Comparación (p) de la distribución de la frecuencia genotípica y alélica del polimorfismo IL-1B-511 en este trabajo y en varias poblaciones. *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$. NS: no significativo. Ref: referente.

País o etnia	N.º	Genotipo (%)				Alelo (%)			Referencia
		CC	CT	TT	P	C	T	p	
Venezuela	100	70	25	5	Ref	82	18	Ref	Este trabajo
Gran Bretaña	54	61	35	4	NS	79	21	NS	Carter <i>et al.</i> , 2004
Norte de la India	206	72	22	6	NS	84	16	NS	Manchanda <i>et al.</i> , 2005
España	81	61	37	2	NS	79	21	NS	Pastor <i>et al.</i> , 2005
China	361	88	12	0	**	94	6	**	Zeng <i>et al.</i> , 2003
Taiwán	116	97	3	0	***	99	1	***	Hang <i>et al.</i> , 2003
Turbia	163	39	42	19	***	60	40	**	Coskun <i>et al.</i> , 2005
Holanda	131	55	37	8	*	74	26	NS	Meulenbelt <i>et al.</i> , 2004
Japón	160	93	7	0	**	97	3	**	Nishimura <i>et al.</i> , 2002
Egipto	72	52	41	7	**	73	27	NS	Hegab <i>et al.</i> , 2005
Afroamericanos	294	77	20	3	NS	87	13	NS	Zabaleta <i>et al.</i> , 2008
Estados Unidos (Caucásicos)	299	64	32	4	NS	80	20	NS	Zabaleta <i>et al.</i> , 2008

Tabla 3. Comparación (p) de la distribución de la frecuencia genotípica y alélica del polimorfismo IL-1B+3954 en este trabajo y en varias poblaciones. *: p<0,05; **: p<0,01; ***: p<0,001. NS: no significativo. Ref: referente.

País o etnia	N.º	Genotipo (%)					Alelo (%)				Referencia
		1/1	1/2	2/2	Otros	p	1	2	3	p	
Venezuela	100	47	41	5	7	Ref	70	27	3	Ref	Este trabajo
Gran Bretaña	54	61	32	7	0	*	77	23	0	NS	Carter <i>et al.</i> , 2004
Norte de la India	206	52	18	24	6	***	66	30	4	NS	Manchanda <i>et al.</i> , 2005
Portugal	220	51	37	9	3	NS	70	27	3	NS	Machado <i>et al.</i> , 2001
China	361	93	4	1	2	***	95	3	2	***	Zeng <i>et al.</i> , 2003
Taiwan	103	86	10	1	3	***	91	6	3	***	Tsai <i>et al.</i> , 2004
México	215	41	44	12	3	NS	63	34	3	NS	Garza <i>et al.</i> , 2005
Holanda	130	55	37	8	0	NS	74	26		NS	Meulenbelt <i>et al.</i> , 2004
Japón	160	91	6	0	3	**	94	3	3	***	Nishimura <i>et al.</i> , 2002
Egipto	72	69	21	10	0	**	80	20	0	NS	Hegab <i>et al.</i> , 2005
Alemania	234	46	41	6	7	NS	69	27	4	NS	Hacker <i>et al.</i> , 1997

Tabla 4. Comparación (p) de la distribución de la frecuencia genotípica y alélica del polimorfismo IL-1RN (intrón 2) en este trabajo y en varias poblaciones. *: p<0,05; **: p<0,01; ***: p<0,001. NS: no significativo. Ref: referente.

La distribución de las frecuencias de los diferentes genotipos y alelos de IL-1 obtenidos en este trabajo fueron tomadas como referencia para ser comparadas con diferentes poblaciones empleando el test χ^2 (tablas 2, 3 y 4). Para el caso de IL-1B-511, se observaron diferencias significativas entre individuos de Portugal, China, Holanda, Egipto y caucásicos de Estados Unidos al ser comparadas con la muestra estudiada en este trabajo (Tabla 2). También fueron observadas diferencias significativas entre las frecuencias de los genotipos del polimorfismo IL-1B+3954 de estudios previamente publicados con poblaciones de China, Taiwán, Turbia, Holanda, Japón y Egipto (Tabla 3). La distribución del genotipo IL-1RN mostró diferencias significativas con poblaciones de Gran Bretaña, India, China, Taiwán, Japón, Egipto y Alemania (Tabla 4).

Al establecer las combinaciones alélicas para IL-1B-511, IL-1B+3954 e IL-1RN los haplotipos más frecuentes observados en esta población fueron T-C-1 y C-C-1 con 68% y 67%, respectivamente.

DISCUSIÓN

La herencia de alelos de genes polimórficos de citoquinas está dramáticamente influenciada por el origen étnico (Hoffmann *et al.*, 2002). Los polimorfismos en los genes de citoquinas pueden resultar en variaciones interindividuales de la regulación de la transcripción, y por lo tanto en la producción diferencial de citoquinas. Ha sido ampliamente planteado que las variantes genéticas de citoquinas podrían tener relevancia fenotípica e influenciar el microambiente interno de cada individuo (Suárez *et al.*, 2003). En el presente estudio, se investigaron los polimorfismos de IL-1 (IL-1B-511, IL-1B+3954 e IL-1RN) en una muestra de la población de la región centroccidental de Venezuela y fue comparada con genotipos reportados en diferentes poblaciones de todo el mundo.

En esta población se observaron diferencias significativas de las frecuencias de los tres polimorfismos estudiados con varias poblaciones de distinto origen étnico. Destaca principalmente como para IL-1B+3954 e IL-1RN las diferencias significativas se presentan con las reportadas para poblaciones de varios países asiáticos. En cuanto a IL-1B-511, se observó un comportamiento algo diferente, en donde las diferencias más significativas ($p < 0,001$) se observaron con poblaciones de dos países europeos (Portugal y Holanda).

La variación de esta población venezolana con respecto a otras del resto del mundo indica el impacto del origen étnico. En otros trabajos recientes se han publicado igualmente la influencia de las variaciones étnicas en la distribución diferencial de las frecuencias poblaciones de los polimorfismos de genes de IL-1 (Um y Kim, 2003; Manchanda *et al.*, 2005; Zabaleta *et al.*, 2008).

La población venezolana, como la de otros países latinoamericanos, ha surgido por la confluencia de grupos de europeos, amerindios y africanos, los cuales participaron de manera diferente por la forma en que se llevó a cabo el proceso de colonización en cada región, llevando a una gran heterogeneidad genética. Es decir, que las frecuencias alélicas en poblaciones mixtas de América varían en relación con la contribución genética parental.

Estudios epidemiológicos continúan sugiriendo la contribución significativa de la variación genética a la susceptibilidad al cáncer. Aunque la participación de numerosos factores genéticos en la patogénesis de las neoplasias está bien probada, la comprensión de los complejos mecanismos moleculares implicados en el crecimiento neoplásico está todavía bastante incompleto (Loktionov *et al.*, 2004). La mayoría de las neoplasias malignas en humanos están caracterizadas por inestabilidad genómica, la cual es el resultado de la acumulación de múltiples alteraciones genéticas y del desbalance alélico en todo el genoma. La asociación entre los polimorfismos de IL-1 y varios tipos de cáncer, en especial de cáncer gástrico, ha sido publicada extensivamente (Perez-Perez *et al.*, 2005; Wang *et al.*, 2006). Recientemente, Zabaleta *et al.*, 2008, al determinar las frecuencias alélicas de varios polimorfismos de IL-1, plantean que las diferencias entre ellas pueden contribuir a las variaciones en la respuesta

inflamatoria y la incidencia y mortalidad por cáncer entre individuos caucásicos y de origen africano en el estado de Luisiana (EU).

Este estudio forma parte de varios proyectos involucrados en establecer bases de datos de diferentes polimorfismos de ADN que han sido implicados en predisposición a cáncer y otras enfermedades. Es posible que las diferencias en la distribución de los polimorfismos IL-1 entre la población sana de la región centroccidental de Venezuela y otros grupos étnicos reflejen un perfil que puede afectar la predisposición y prevalencia a enfermedades.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por Proyecto 025-ME-2005 CDCHT-UCLA.

BIBLIOGRAFÍA

CANTAGREL A, NAVAUX F, LOUBET-LESCOULIE P, NOURHASHEMI F, ENAULT G, ABBAL M, *et al.* Interleukin-1 beta, interleukin-1 receptor antagonist, interleukin-4 and interleukin-10 gene polymorphisms: relationship to occurrence and severity of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 1999;42:1093-1100.

CARTER MJ, JONES S, CAMP NJ, COX A, MEE J, WARREN B, *et al.* Functional correlates of the interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphism in the colonic mucosa in ulcerative colitis. *Genes Immun.* 2004;5:8-15.

COSKUN M, BACANLI A, SALLAKCI N, ALPSOY E, YAVUZER U, YEGIN O. Specific interleukin-1 gene polymorphisms in Turkish patients with Behcet's disease. *Exp Dermatol.* 2005;14:124-129.

EL-OMAR EM, RABKIN CS, GAMMON MD, VAUGHAN TL, RISCH HA, SCHOENBERG JB, *et al.* Increased risk of noncardia gastric cancer associated with proinflammatory cytokine gene polymorphisms. *Gastroenterology.* 2003;124:1193-1201.

GARZA GONZALEZ E, BOSQUES-PADILLA FJ, EL-OMAR E, HOLD G, TIJERINA-MENCHACA R, MALDONADO-GARZA HJ, *et al.* Role of the polymorphic IL-1B, IL-1RN and TNF-A genes in distal gastric cancer in Mexico. *Int J Cancer.* 2005;114:237-241.

HACKER UT, GOMOLKA M, KELLER E, EIGLER A, FOLWACZNY C, FRICKE H, *et al.* Lack of association between an interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphism and ulcerative colitis. *Gut.* 1997;40:623-627.

HANG LW, HSIA TC, CHEN WC, CHEN HY, TSAI JJ, TSAI FJ. Interleukin-10 gene -627 allele variants, not interleukin-1 beta gene and receptor antagonist gene polymorphisms, are associated with atopic bronchial asthma. *J Clin Lab Anal.* 2003;17(5):168-173.

HEGAB AE, SAKAMOTO T, SAITOH W, NOMURA A, ISHII Y, MORISHIMA Y, *et al.* Polymorphisms of TNFalpha, IL1beta, and IL1RN genes in chronic obstructive pulmonary disease. *Biochem Biophys Res Commun.* 2005;329:1246-1252.

HOFFMANN SC, STANLEY EM, COX ED, DIMERCURIO BS, KOZIOL DE, HARLAN DM, *et al.* Ethnicity greatly influences cytokine gene polymorphism distribution. *Am J Transplant.* 2002;2(6):560-567.

HU Z, SHAO M, CHEN Y, ZHOU J, QIAN J, XU L, *et al.* Allele 2 of the interleukin-1 receptor antagonist gene (IL1RN*2) is associated with a decreased risk of primary lung cancer. *Cancer Lett.* 2006;236(2):269-275.

IANNUZZI MC, MALIARIK M, RYBICKI B. Genetic polymorphisms in lung disease: bandwagon or breakthrough? *Respir Res.* 2002;3:15-22.

KONISHI N, MIKI C, YOSHIDA T, TANAKA K, TOIYAMA Y, KUSUNOKI M. Interleukin-1 receptor antagonist inhibits the expression of vascular endothelial growth factor in colorectal carcinoma. *Oncology.* 2005;68(2-3):138-145.

LEE SH, IHM CG, SOHN SD, LEE TW, KIM MJ, KOH G, *et al.* Polymorphisms in interleukin-1 beta and Interleukin-1 receptor antagonist genes are associated with kidney failure in Korean patients with type 2 diabetes mellitus. *Am J Nephrol.* 2004;24: 410-414.

LOKTIONOV A. Common gene polymorphisms, cancer progression and prognosis. *Cancer Lett.* 2004;208(1):1-33.

MACHADO JC, PHAROAH P, SOUSA S, CARVALHO R, OLIVEIRA C, FIGUEIREDO C, *et al.* Interleukin 1B and interleukin 1RN polymorphisms are associated with increased risk of gastric carcinoma. *Gastroenterology.* 2001;121:823-829.

MANCHANDA PK, BID HK, MITTAL RD. Ethnicity greatly influences the interleukin-1 gene cluster (IL-1b promoter, exon-5 and IL-1Ra) polymorphisms: a pilot study of a north Indian population. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2005;6(4):541-546.

MEULENBELT I, SEYMOUR AB, NIEUWLAND M, HUIZINGA TW, VAN DUJIN CM, SLAGBOOM PE. Association of the interleukin-1 gene cluster with radiographic signs of osteoarthritis of the hip. *Arthritis Rheum.* 2004;50:1179-1186.

NEMETZ A, TÓTH M, GARCÍA-GONZÁLEZ MA, ZÁGONI T, FEHÉR J, PEÑA AS, *et al.* Allelic variation at the interleukin 1beta gene is associated with decreased bone mass in patients with inflammatory bowel diseases. *Gut.* 2001;49(5):644-649.

NISHIMURA M, KAWAKAMI H, KOMURE O, MARUYAMA H, MORINO H, IZUMI Y, *et al.* Contribution of the interleukin-1beta gene polymorphism in multiple system atrophy. *Mov Disord.* 2002;17:808-811.

PASTOR JJ, LASO FJ, ROMERO A, GONZÁLEZ-SARMIENTO R. Interleukin-1 gene cluster polymorphisms and alcoholism in Spanish men. *Alcohol Alcohol.* 2005; 40:181-186.

PEREZ-PEREZ GI, GARZA-GONZALEZ E, PORTAL C, OLIVARES AZ. Role of cytokine polymorphisms in the risk of distal gastric cancer development. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2005;14:1869-1873.

STOKKERS PC, VAN AKEN BE, BASOSKI N, REITSMA PH, TYTGAT GN, VAN DEVENTER SJ. Five genetic markers in the interleukin 1 family in relation to inflammatory bowel disease. *Gut.* 1998;43:33-39.

SUÁREZ A, CASTRO P, ALONSO R, MOZO L, GUTIÉRREZ C. Interindividual variations in constitutive interleukin-10 messenger RNA and protein levels and their association with genetic polymorphisms. *Transplantation.* 2003;75(5):711-717.

TSAI Y-Y, LEE H, TSENG S-H, CHENG YW, TSAI CH, HSU CM, *et al.* Evaluation of TNF- α and IL-1b β polymorphisms in Taiwan Chinese patients with pterygium. *Eye.* 2004;19(5):571-574.

UM JY, KIM HM. Frequencies of interleukin 1 gene polymorphisms in Koreans. *Clin Chem.* 2003;49(12):2101-2102.

WANG P, XIA HHX, ZHANG JY, DAI LP, XU XQ, WANG KJ. Association of interleukin-1 gene polymorphisms with gastric cancer: A meta-analysis. *Int J Cancer*. 2006;120:552-562.

ZABALETA J, SCHNEIDER BG, RYCKMAN K, HOOPER PF, CAMARGO MC, PIAZUELO MB, *et al.* Ethnic differences in cytokine gene polymorphisms: potential implications for cancer development. *Cancer Immunol Immunother*. 2008;57:107-114.

ZENG ZR, HU PJ, HU S, PANG RP, CHEN MH, NG M, *et al.* Association of interleukin 1B gene polymorphism and gastric cancers in high and low prevalence regions in China. *Gut*. 2003;52:1684-1689.