

Polimorfismos genéticos de interleuquina 6 (*IL6*), *IL6R* e *IL18*: asociación con componentes del síndrome metabólico en niños chilenos con obesidad

JOSÉ SUAZO^{1,2,a}, SUSAN VALERIE SMALLEY^{1,b},
MARÍA ISABEL HODGSON¹, GERARDO WEISSTAUB³,
ANDREA GONZÁLEZ^{1,4}, JOSÉ LUIS SANTOS^{1,c}

Association between genetic polymorphisms of interleukin 6 (*IL6*), *IL6R* and *IL18* with metabolic syndrome in obese Chilean children

Background: Metabolic Syndrome (MS) is highly prevalent among obese children and adolescents and is considered a predictor for the development of type 2 diabetes mellitus and cardiovascular disease. Obesity is associated with an increase in circulating levels of interleukins 6 (*IL6*) and 18 (*IL18*), which in turn would depend on polymorphisms of *IL6*, *IL6R* and *IL18* genes. **Aim:** To evaluate the association between genetic polymorphisms of *IL6* (*rs1800795*, *rs1800796* and *rs1800797*), *IL6R* (*rs2228145*) and *IL18* (*rs360719*, *rs187238* and *rs204355*) and MS and/or its components in a sample of Chilean obese children. **Patients and Methods:** These polymorphisms were genotyped in 259 obese children aged 10 ± 2 years with a body mass index of 26.1 ± 4.1 kg/m². Sixty eight had metabolic syndrome (26.3%). The association of their alleles, genotypes and haplotypes with the MS and its components was assessed. **Results:** *IL6*, *IL6R* and *IL18* variants showed no association with SM nor with any of the phenotypes that compose it. However, *IL18* haplotypes (*rs360719*-*rs187238*-*rs204355*) TCT and CGT were associated with triglycerides ≤ 110 mg/dL and HDL < 40 mg/dL, respectively. **Conclusions:** *IL6* and *IL6R* variants are not associated with MS or with any of its phenotypes. Although an association between *IL18* haplotypes and certain MS component has been detected herein, it is necessary to replicate our findings in independent studies due to the low frequency of these allele combinations detected in our sample.

(Rev Med Chile 2014; 142: 290-298)

Key words: Haplotypes; Interleukin-18; Metabolic syndrome X.

¹Departamento de Nutrición, Diabetes y Metabolismo, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile.

²Instituto de Investigación en Ciencias Odontológicas, Facultad de Odontología, Universidad de Chile. Santiago, Chile.

³Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA), Universidad de Chile. Santiago, Chile.

⁴Departamento de Pediatría y Cirugía Infantil. Universidad de la Frontera. Temuco, Chile.

^aTecnólogo Médico, Doctor (Ph.D.) en Ciencias Biomédicas.

^bBióloga, Magister en Ciencias.

^cBiólogo, Doctor (Ph.D.) en Ciencias Biológicas.

Fuente de Financiamiento: Proyecto FONDECYT 1090388.

Recibido el 27 de noviembre de 2013, aceptado el 13 de marzo de 2014.

Correspondencia:
Prof. José Luis Santos
Alameda 340, Edificio de Gastroenterología 4^{to} piso.
Santiago, Chile.
Teléfono: +56-2-3543862;
Fax: +56-2-6338298.
jsantos@med.puc.cl

El síndrome metabólico (SM) se define por la combinación de obesidad central, hipertensión arterial, dislipidemia e hiperglicemia. Si bien el significado biológico del SM es controversial¹, este es considerado como un factor predictor del desarrollo patologías como

diabetes mellitus tipo 2 (DM2) y enfermedad cardiovascular, ambas condiciones relacionadas con la resistencia a la insulina (RI)². Países desarrollados y en vías de desarrollo registran un incremento en la prevalencia de obesidad en niños y adolescentes (~14% en 2000 a ~17% en

2010)³. En Chile, la rápida transición epidemiológica y nutricional ha triplicado la prevalencia de obesidad infantil en las últimas dos décadas^{4,5}. La relación entre sobrepeso/obesidad infantil y RI ha enfocado la investigación en el SM como predictor de enfermedades de la vida adulta⁶. La prevalencia global de SM en niños y adolescentes se ha estimado en 4,2% y 8,6%, respectivamente^{7,8}. Sin embargo, estas tasas se incrementan considerablemente cuando sólo se consideran niños obesos (19-28%)⁷⁻⁹. Recientemente, nuestro grupo ha reportado una prevalencia de 26,3% en una población de niñas y niños obesos (6-12 años) de la ciudad de Santiago, Chile¹⁰.

La agregación familiar del SM y las diferencias en su prevalencia de acuerdo al origen étnico, ha permitido postular la existencia de factores genéticos en su expresión^{7,8,11,12}. Estudios de asociación de genoma completo han relacionado factores genéticos con cada uno de los componentes del SM¹³. Usando herramientas bioinformáticas, Sookoian y Pirola¹⁴, han identificado una serie de genes y rutas biológicas comunes asociadas al riesgo de SM, muchos de ellos relacionados con la respuesta inmune e inflamatoria.

Las interleuquinas (IL) incluyen una serie de péptidos que ejercen múltiples efectos biológicos, y que han sido estudiadas tradicionalmente desde la perspectiva de su relación con procesos inflamatorios¹⁵. La acumulación de grasa corporal propia de la obesidad se acompaña de un estado inflamatorio de baja intensidad que se caracteriza por hipertrofia e hiperplasia del tejido adiposo, reclutamiento de macrófagos, y producción incrementada de adipoquinas tales como IL6, TNF- α , IL-1 β y leptina, procesos que podrían activarse durante la infancia¹⁶. A estas moléculas podemos agregar el efecto de IL18 sobre la modulación de la ingesta y la acumulación de adiposidad demostrada en ratones deficientes del gen *Il18*¹⁷. Dada su relación con estados inflamatorios, los niveles de IL6, de su receptor soluble (IL6sR) y de interleuquina 18 (IL18) han sido correlacionados con obesidad, RI y DM2¹⁸⁻²³. Por lo tanto, es posible postular que los niveles de IL6, IL6sR e IL18 pueden estar relacionados con SM o alguno de sus componentes.

Existen evidencias para postular que los niveles circulantes de IL6 e IL6sR estarían influenciados por polimorfismos genéticos²⁴⁻²⁸. Se ha demostrado que los polimorfismos de base

simple (SNPs) en la región promotora del gen *IL6* (7p21), rs1800795 (-174G > C), rs1800796 (-572 G > C) y rs1800797 (-598G > C), ejercen un rol conjunto en la actividad transcripcional de dicho promotor²⁹. El gen *IL6R* (1q21.3), codifica tanto para un receptor asociado a membrana como para IL6sR, como producto de un *splicing* alternativo y/o de un procesamiento proteico³⁰. La variante no sinónima rs2228145 (p.Asp358Ala) en *IL6R* parece alterar la estructura proteica extracelular del receptor asociado a membrana, estimulando así su procesamiento hacia la producción de su forma soluble³¹. IL6sR es necesario para ejercer el efecto de IL6 en células que no expresan dicho receptor³². Por su parte, los polimorfismos de la región promotora del gen *IL18* (11q23.1), rs360719 (-1297T > C) y rs187238 (-137G > C) y la variante intrónica rs204355 (-5848T > C) han demostrado tener influencia sobre los niveles circulantes de IL18³³⁻³⁵. Además, estos polimorfismos de *IL6*, *IL6R* e *IL18* han sido asociados previamente tanto con SM como con sus componentes, en poblaciones de diferente origen étnico^{21,30,37-40}. En el caso de la población chilena, se reporta un estudio que asocia a rs2228145 con el índice de masa corporal (IMC) en mujeres con DM1⁴¹.

Dados los antecedentes antes expuestos, el objetivo de este estudio es replicar la asociación, a nivel alélico, genotípico y haplotípico, existente entre polimorfismos genéticos de *IL6* (rs1800795, rs1800796 y rs1800797), de *IL6R* (rs2228145) y de *IL18* (rs360719, rs187238 y rs204355) con el SM y/o sus componentes. Para ello, hemos considerado una muestra de niñas y niños con obesidad en la que se ha descrito previamente tanto su perfil metabólico como la prevalencia de SM¹⁰.

Sujetos y Métodos

Participantes

En un estudio transversal, se reclutaron 259 niños y niñas chilenas (122 niñas y 137 niños; edad 6-12 años) con IMC \geq percentil 95 de acuerdo a NCHS/CDC⁴². El perfil antropométrico, metabólico y del estado de madurez puberal de esta muestra se describe en la Tabla 1 y en una publicación anterior de nuestro grupo¹⁰. Dicho artículo reporta un IMC Z-score promedio de 2,12 (mínimo 1,30; máximo 3,33). Respecto al estadio puberal, esta muestra presenta la siguiente distribución: 61,8% Tanner 1; 22,9% Tanner 2; 11,6% Tanner 3; 2,8%

Tabla 1. Características antropométricas y metabólicas de 259 niñas y niños chilenos con obesidad

	Total muestra (n = 259) Promedio ± DS	SM^a (n = 68) Promedio ± DS	No-SM^b (n = 191) Promedio ± DS	p^c
Edad (años)	9,6 ± 1,8	10,1 ± 1,7	9,4 ± 1,8	0,014
Peso (kg)	51,9 ± 13,9	55,8 ± 14,8	50,9 ± 13,2	0,014
Estatura (cm)	139,9 ± 11,3	142,5 ± 11,8	139,3 ± 10,8	0,049
IMC (kg/m ²)	26,1 ± 4,1	26,9 ± 3,9	25,8 ± 4,0	0,055
IMC z-score	2,12 ± 0,33	2,12 ± 0,32	2,13 ± 0,33	0,862
Circunferencia de cintura (cm)	85,9 ± 10,6	89,3 ± 11,4	85,1 ± 9,9	0,004
Presión diastólica (mmHg)	67,5 ± 10,9	70,9 ± 12,9	66,3 ± 9,9	0,004
Presión sistólica (mmHg)	104,8 ± 12,5	109,4 ± 14,1	103,4 ± 11,4	0,001
Insulinemia en ayunas (μU/mL)	9,75 ± 9,77	11,99 ± 7,57	8,95 ± 10,36	0,034
Glicemia en ayunas (mg/dL)	88,9 ± 10,9	91,1 ± 11,7	88,2 ± 10,6	0,076
HOMA-IR	2,16 ± 2,18	2,73 ± 1,87	1,95 ± 2,25	0,014
Colesterol total (mg/dL)	163,7 ± 30,3	167,1 ± 28,1	162,5 ± 31,1	0,303
Colesterol-LDL (mg/dL)	95,4 ± 24,4	96,3 ± 23,5	95,2 ± 24,7	0,770
Colesterol-HDL (mg/dL)	45,9 ± 9,9	37,5 ± 6,6	48,8 ± 9,2	< 0,001
Triglicéridos (mg/dL)	104,9 ± 58,1	156,7 ± 63,5	86,8 ± 42,9	< 0,001

^aNiñas y niños con obesidad y síndrome metabólico. ^bNiñas y niños con obesidad y sin síndrome metabólico. ^cp-value para la comparación de promedios de obesos con SM versus obesos sin SM para la prueba de t de Student.

Tanner y 0,9% Tanner 5. Respecto a antecedentes familiares de obesidad, el 27,8% de los casos tiene un progenitor obeso (IMC ≥ 30 kg/m²), mientras que 12,7% tiene ambos progenitores obesos. Estos niños y niñas fueron reclutados desde unidades de atención ambulatoria pediátricas del Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA)-Universidad de Chile, de la Red de Salud de La Facultad de Medicina de la Pontificia Universidad Católica de Chile y a través de invitaciones abiertas a escuelas del sistema municipal de educación del área sur-oriente de la Región Metropolitana. Todos los progenitores o tutores legales firmaron un documento de consentimiento informado aprobado por los Comités de Ética de Investigación institucionales.

Diagnóstico de síndrome metabólico (SM)

El SM fue definido por la presencia de al menos 3 de los 5 componentes del fenotipo de Cook: circunferencia de cintura sobre percentil 90 acorde con género y edad, niveles de triglicéridos séricos > 110 mg/dL, colesterol-HDL < 40 mg/dL,

glicemia en ayunas > 100 mg/dL, y presión arterial sistólica y/o diastólica > percentil 90 acorde con género, edad y estatura^{7,43}.

Genotipificación de SNPs de *IL6*, *IL6R* e *IL18*

A todos los individuos participantes se les extrajo una muestra de sangre periférica desde donde se obtuvo ADN genómico usando un *kit* comercial (QIAamp DNA Blood Mini Kit, Qiagen Sciences Inc, Germantown MD, USA). Todos los polimorfismos fueron genotipificados mediante reacción en cadena de la polimerasa seguida de análisis de fragmentos de restricción (PCR-RFLP) de acuerdo a protocolos previamente descritos^{21,38,44-46}.

Análisis estadístico

Las frecuencias alélicas y genotípicas para todos los polimorfismos fueron estimadas usando proporciones simples. El equilibrio de Hardy-Weinberg en la distribución de las frecuencias genotípicas fue evaluado a través de una prueba de χ^2 de bondad de ajuste. La presencia de asociación entre alelos de estos SNPs y el SM y/o sus compo-

entes, se analizó estimado *Odds Ratio* (OR) con intervalos de confianza de 95% (IC 95%). La asociación genotípica se estimó mediante regresión logística, calculando OR con IC 95%, ajustado por edad y género. Todos los análisis estadísticos se llevaron a cabo con el programa STATA 12.0. Por su parte, la presencia de asociación entre haplotipos conformados por SNPs de *IL6*, *IL18* y el SM y/o sus componentes se llevo a cabo con el programa UNPHASED 3.1.4, que aplica una prueba global de razón de verosimilitud⁴⁷.

Resultados

De acuerdo a los criterios de Cook⁷, el número de sujetos de esta muestra diagnosticados con SM son 68 (26,3%) de un total de 259 niñas y niños obesos¹⁰, en donde las principales variables antropométricas y metabólicas de la muestra se detallan en la Tabla 1. Por su parte, la Tabla 2 muestra la proporción de individuos que exceden los puntos de corte de acuerdo a estos criterios.

La Tabla 3 muestra las frecuencias alélicas de los SNPs de *IL6*, *IL6R* e *IL18*, para los niños y niñas con SM y para aquellos no clasificados en este grupo (no-SM). Al comparar ambos grupos, no existen diferencias significativas en las frecuencias alélicas de ninguna de las siete variantes (Tabla 3). Las frecuencias genotípicas de los siete SNPs analizados en individuos SM y no-SM (Tabla 4) se distribuyeron de acuerdo al equilibrio de Hardy-Weinberg en ambos grupos (datos no mostrados). Ninguno de los siete SNPs aquí considerados presentó genotipos de riesgo para SM, incluyendo

en el modelo las variables edad y género (Tabla 4). Esta ausencia de asociación alélica y genotípica persiste para cada uno de los componentes del SM: circunferencia de cintura > percentil 90, triglicéridos > 110 mg/dL, colesterol-HDL < 40 mg/dL, glicemia en ayunas > 100 mg/dL, presión arterial sistólica y/o diastólica > percentil 90 (datos no mostrados).

Entre todos los haplotipos que es posible construir con los SNPs de *IL6*, por una parte, y con los de *IL18* por otra, sólo algunos de este último gen mostraron asociación con ciertos componentes del SM (Tabla 5, orden de los SNPs rs360719-rs187238-rs2043055). Así, el haplotipo TCT (p = 0,003) tendría un efecto protector para el fenotipo circunferencia de cintura > percentil 90. Por su parte el haplotipo CGT (p = 0,025) presenta una frecuencia significativamente mayor

Tabla 2. Componentes del síndrome metabólico en 259 niñas y niños chilenos con obesidad

Componente ^a	% (IC 95%)
Circunferencia de cintura > percentil 90	97,2 (95,2-99,2)
Hipertensión arterial ^b	25,8 (20,3-31,3)
Glicemia en ayunas > 100 mg/dL	11,7 (7,7-15,7)
Colesterol-HDL < 40 mg/dL	30,2 (24,4-35,9)
Triglicéridos > 110 mg/dL	31,8 (26,0-37,6)
Prevalencia SM	26,3 (20,8-31,7)

^aDe acuerdo a los criterios descritos por Cook et al.⁷ ^bPresión diastólica > percentil 90 o presión sistólica > percentil 90 o ambas.

Tabla 3. Asociación entre alelos de los SNPs de *IL6*, *IL6R* e *IL18* y el SM en una muestra de 259 niñas y niños con obesidad

Gen	SNP	Alelos ^a	Frecuencia SM ^b (n = 68)	Frecuencia No-SM ^c (n = 191)	OR (IC 95%)	p
<i>IL6</i>	rs1800797	G/A	0,19	0,19	0,99 (0,52-1,82)	0,969
	rs1800796	G/C	0,32	0,29	1,10 (0,67-1,81)	0,671
	rs1800795	G/C	0,23	0,24	0,93 (0,52-1,62)	0,790
<i>IL6R</i>	rs8192284	C/A	0,37	0,37	0,98 (0,61-1,59)	0,957
<i>IL18</i>	rs360719	T/C	0,29	0,34	0,81 (0,48-1,37)	0,412
	rs187238	G/C	0,34	0,32	1,11 (0,69-1,75)	0,637
	rs2043055	T/C	0,56	0,49	1,31 (0,81-2,13)	0,243

^aAlelo de mayor frecuencia se indica en primer lugar. ^bFrecuencia del alelo menor en niñas y niños con obesidad y síndrome metabólico. ^cFrecuencia del alelo menor en niñas y niños con obesidad y sin síndrome metabólico.

Tabla 4. Asociación entre genotipos los SNPs de *IL6*, *IL6R* e *IL18* y el SM en una muestra de 259 niñas y niños con obesidad

Gen	SNP	Genotipos	Frecuencia SM ^a	Frecuencia No-SM ^b	No ajustado		Ajustado por edad y género	
					OR (IC 95%)	p	OR (IC 95%)	p
<i>IL6</i>	rs1800797	GG	0,64	0,64	Ref.		Ref.	
		GA	0,34	0,33	1,02 (0,51-2,05)	0,947	0,92 (0,45-1,90)	0,834
		AA	0,02	0,03	0,80 (0,08-7,43)	0,844	0,47 (0,05-4,55)	0,518
	rs1800796	GG	0,50	0,51	Ref.		Ref.	
		GC	0,37	0,40	0,93 (0,48-1,81)	0,841	0,92 (0,47-1,82)	0,829
		CC	0,13	0,09	1,41 (0,52-3,84)	0,493	1,31 (0,47-3,64)	0,608
	rs1800795	GG	0,61	0,56	Ref.		Ref.	
		GC	0,33	0,40	0,77 (0,39-1,53)	0,465	0,72 (0,36-1,44)	0,355
		CC	0,06	0,04	1,37 (0,32-5,82)	0,669	1,05 (0,24-4,72)	0,941
<i>IL6R</i>	rs8192284	CC	0,43	0,40	Ref.		Ref.	
		CA	0,40	0,46	0,78 (0,39-1,55)	0,483	0,92 (0,45-1,88)	0,826
		AA	0,17	0,14	1,11 (0,45-2,79)	0,812	1,12 (0,44-2,87)	0,810
<i>IL18</i>	rs360719	TT	0,50	0,47	Ref.		Ref.	
		TC	0,42	0,39	1,00 (0,51-1,97)	0,995	1,13 (0,56-2,29)	0,728
		CC	0,08	0,14	0,54 (0,17-1,74)	0,307	0,54 (0,16-1,78)	0,314
	rs187238	GG	0,44	0,49	Ref.		Ref.	
		GC	0,43	0,39	1,07 (0,55-2,08)	0,834	1,31 (0,65-2,63)	0,437
		CC	0,13	0,12	0,93 (0,33-2,61)	0,896	0,98 (0,34-2,82)	0,971
	rs2043055	TT	0,18	0,26	Ref.		Ref.	
		TC	0,51	0,49	1,49 (0,65-3,42)	0,341	1,67 (0,69-4,02)	0,252
		CC	0,31	0,25	2,17 (0,86-5,43)	0,098	1,93 (0,73-5,05)	0,183

^aFrecuencias genotípicas en niñas y niños obesos con síndrome metabólico. ^bFrecuencias genotípicas en niñas y niños obesos sin síndrome metabólico.

en individuos con niveles de triglicéridos ≤ 110 mg/dL. Por último, la combinación alélica TCT ($p = 0,016$) incrementaría el riesgo de presentar niveles plasmáticos de HDL < 40 mg/dL (Tabla 5).

Discusión

Estudios previos indican que, en conjunto, los polimorfismos genéticos de *IL6* e *IL6R* analizados en este estudio, regularían los niveles de *IL6* y su función²⁹⁻³². Adicionalmente, la relación antes descrita entre *IL6*, inflamación y alteraciones metabólicas, permitiría postular la presencia de asociación entre variantes de estos genes y SM y/o sus componentes. Sin embargo, en nuestra muestra de niñas y niños obesos chilenos, no se detectó asociación entre alelos, genotipos ni haplotipos de *IL6* e *IL6R* tanto con SM como para ninguno de sus componentes, situación similar a la de otros estudios⁴⁸⁻⁵⁰.

Nuestros hallazgos podrían estar influenciados por factores como la edad. Las alteraciones del sistema inmune en el envejecimiento, se manifiestan como incremento de los niveles circulantes de mediadores de la inflamación como las interleuquinas, agravando así patologías asociadas a la edad⁵¹. La mayoría de los reportes que relacionan niveles de *IL6* y/o sus variantes genéticas con componentes del SM, se han llevado a cabo en adultos^{21,28,39,48,52}. En este contexto, linfocitos B inmortalizados de adultos mayores (89 años promedio) portadores del alelo C de rs1800795 (promotor de *IL6*), producen significativamente más *IL6* que linfocitos, también provenientes de portadores de este alelo, pero con 35 años de edad promedio⁵³. Sin embargo, algunos de los polimorfismos aquí analizados muestran asociación con componentes del SM en adolescentes. Es así como la variante *IL6R* rs2228145 ha sido asociada con incremento de la circunferencia abdominal y triglicéridos y

bajos niveles de HDL en niñas adolescentes de Taiwan (edad promedio 13,1 años; IMC promedio 20,5 kg/m²)⁴⁰. En adolescentes españoles (edad promedio 14,5 años; IMC Z-score promedio 1,05), el polimorfismo rs1800795 de *IL6*, aunque no se asocia directamente con ningún componente del SM, tiene influencia sobre la relación porcentaje de grasa corporal-glicemia en ayunas⁵⁴. Esto refleja la presencia de otros factores como el género y el origen étnico, que se ha demostrado que son las principales variables que influyen los niveles de *IL6*⁵⁵. En dicho reporte, las mujeres presentaron mayores niveles de esta interleuquina que los varones, diferencia que los autores atribuyen al efecto de las hormonas sexuales.

Respecto al origen étnico, los afroamericanos muestran mayores niveles circulantes de *IL6* que los caucásicos⁵⁵. En este contexto, y de acuerdo al origen propuesto de la población chilena contemporánea⁵⁶, las frecuencias del alelo menor de los polimorfismos de *IL6* en nuestra muestra se acercan más a los valores descritos para amerindios que para caucásicos (0,22, 0,29 y 0,18 para rs1800795, rs1800796 rs1800797, respectivamente). En cambio, la frecuencia de rs2228145 en *IL6R*, es muy similar a la de caucásicos (<http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov/>). Existe la posibilidad que estas frecuencias no sean suficientes para detectar riesgos genotípicos bajos (como los que habitualmente se describen en enfermedades complejas) con el número de casos de SM considerados en este estudio (n = 68, en una población de 259 individuos).

Para las variantes polimórficas del gen *IL18*, en nuestra muestra no se observaron alelos ni genotipos de riesgo para SM ni para ninguno de los fenotipos que lo componen. Sin embargo, se detectan algunos haplotipos, contruidos con los

alelos de estos SNPs, que muestran asociación con ciertos componentes del SM (Tabla 5). Así, el haplotipo TCT tendría un rol protector ante valores alterados de circunferencia de cintura (> percentil 90), resultado que parece ser el reflejo del reducido número de individuos que presentan valores normales para este fenotipo (11 de 259) y por ende, de las frecuencias haplotípicas observadas. El haplotipo CGT mostró tener un rol protector para los niveles elevados de triglicéridos al presentar una frecuencia significativamente mayor en sujetos con valores ≤ 110 mg/dL. Por su parte el haplotipo TCT se asocia con niveles reducidos de HDL (< 40 mg/dL). Las diferencias entre los análisis alelico/genotípico y haplotípico pueden explicarse por el mayor poder del uso de haplotipos para detectar asociaciones genotipo-fenotipo, versus el uso de marcadores individuales⁵⁷⁻⁵⁸. En cualquier caso, los haplotipos permiten capturar una mayor variabilidad genética (por desequilibrio de ligamiento) en relación al uso de variantes aisladas⁵⁹.

Los niveles circulantes de *IL18* parecen ser influenciados por las variantes funcionales en la región promotora de *IL18* consideradas en este trabajo. Es así como los portadores del alelo C de rs360719 muestran un incremento en la expresión del RNA mensajero de este gen versus el alelo T³⁶. En el caso de rs187238, el alelo G se correlaciona con una mayor actividad transcripcional del promotor³³. Por su parte, el alelo C del SNP intrónico rs204355 se asocia con mayores niveles circulantes de esta interleuquina³⁵. Dado que se ha reportado que a medida que aumentan los niveles de *IL18* se incrementan los triglicéridos y disminuye el colesterol-HDL⁶⁰, nuestros resultados parecen paradójicos. El haplotipo asociado a niveles normales de triglicéridos porta alelos correlacionados con

Tabla 5. Haplotipos conformados por los SNPs de *IL18* que muestran asociación con componentes del SM en una muestra de 259 niñas y niños con obesidad

Haplotipo ^a	Frecuencias		p
Circunferencia de cintura T-C-T	> Percentil 90 (n = 248) 0,02	≤ Percentil 90 (n = 11) 0,18	0,003
Triglicéridos C-G-T	> 110 mg/dL (n = 82) 0,01	≤ 110 mg/dL (n = 177) 0,07	0,025
cHDL T-C-T	< 40 mg/dL (n = 78) 0,06	≥ 40 mg/dL (n = 181) 0,01	0,016

^aOrden de los SNPs en el haplotipo: rs360719-rs187238-rs2043055.

niveles mayores de esta interleuquina (rs360719-C y rs187238-G). En el caso de los niveles de HDL, se esperaría que los portadores del haplotipo asociado a este fenotipo (TCT) tuviesen menores niveles de IL18 y, por lo tanto, mayores valores de HDL. Sin embargo, todas estas inferencias se basan en los efectos individuales descritos para cada alelo de estas tres variantes y en adultos, por lo que no necesariamente son extrapolables a nuestra muestra. Además, nuestros resultados pueden verse influenciados por las relativamente bajas frecuencias de los haplotipos CGT y TCT en nuestra población (Tabla 5). Esto devela algunas de las debilidades de nuestro estudio, por lo que se hacen necesarios trabajos independientes con tamaños muestrales mayores, que consideren el efecto de estos haplotipos sobre los niveles circulantes de IL18 (u otros marcadores de inflamación) en la infancia.

En síntesis, en nuestra población las variantes de los genes *IL6* e *IL6R* no se asocian con un incremento del riesgo de presentar SM ni con ninguno de los fenotipos que lo componen. Estos resultados podrían ser explicados por el efecto de una serie de factores tales como la edad, el género, el origen étnico o la magnitud de la asociación esperada. Sin embargo, ciertos haplotipos, de baja frecuencia, conformados por los polimorfismos de *IL18* se asocian con niveles normales de triglicéridos (≤ 110 mg/dL) y niveles anormalmente bajos de HDL (< 40 mg/dL). Consideramos necesario estudios independientes que repliquen nuestros hallazgos.

Agradecimientos: Los autores desean agradecer la colaboración de las niñas y niños participantes de este estudio y de sus familias, sin la cual este estudio no habría sido posible. Este trabajo fue financiado por el proyecto del Fondo Nacional para el Desarrollo de la Ciencia y la Tecnología (FONDECYT) número 1090388.

Referencias

1. Kahn R. Metabolic syndrome: is it a syndrome? Does it matter? *Circulation* 2007; 115 (13): 1806-10.
2. Reaven GM. Insulin resistance, the insulin resistance syndrome, and cardiovascular disease. *Panminerva Med* 2005; 47 (4): 201-10.
3. Ogden CL, Carroll MD, Kit BK, Flegal KM. Prevalence of obesity in the United States, 2009-2010. *NCHS Data Brief* 2012; 82 (1): 1-8.
4. Albala C, Vio F, Kain J, Uauy R. Nutrition transition in Chile: determinants and consequences. *Public Health Nutr* 2002; 5 (1A): 123-8.
5. Kain J, Uauy R, Vio F, Albala C. Trends in overweight and obesity prevalence in Chilean children: comparison of three definitions. *Eur J Clin Nutr* 2002; 56 (3): 200-4.
6. Sanjurjo-Crespo P, Prieto Perera JA, Andrade Lodeiro F, Aldámiz-Echevarría Azuara L. Metabolic syndrome in childhood. *Public Health Nutrition* 2007; 10 (10A): 1121-5.
7. Cook S, Weitzman M, Auinger P, Nguyen M, Dietz WH. Prevalence of a metabolic syndrome phenotype in adolescents: findings from the third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2003; 157 (8): 821-7.
8. Johnson WD, Kroon JJ, Greenway FL, Bouchard C, Ryan D, Katzmarzyk PT. Prevalence of risk factors for metabolic syndrome in adolescents: National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES), 2001-2006. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2009; 163 (4): 371-7.
9. Guijarro de Armas MA, Monereo Megías S, Merino Viveros M, Iglesias Bolaños P, Vega Piñero B. Prevalence of metabolic syndrome in a population of obese children and adolescents. *Endocrinol Nutr* 2012; 59 (3): 155-9.
10. Suazo J, Hodgson MI, Obregón AM, Valladares M, Weisstaub G, Amador P, et al. Prevalence of metabolic syndrome in obese Chilean children and association with gene variants of the leptin-melanocortin system. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2013. doi: 10.1515/jpem-2013-0084.
11. Park HS, Park JY, Cho SI. Familial aggregation of the metabolic syndrome in Korean families with adolescents. *Atherosclerosis* 2006; 186 (1): 215-21.
12. Tang W, Hong Y, Province MA, Rich SS, Hopkins PN, Arnett DK. Familial clustering for features of the metabolic syndrome: the National Heart, Lung, and Blood Institute (NHLBI) Family Heart Study. *Diabetes Care* 2006; 29 (3): 631-6.
13. Sookoian S, Pirola CJ. Genetics of the cardiometabolic syndrome: new insights and therapeutic implications. *Ther Adv Cardiovasc Dis* 2007; 1 (1): 37-47.
14. Sookoian S, Pirola CJ. Metabolic syndrome: from the genetics to the pathophysiology. *Curr Hypertens Rep* 2011; 13 (2): 149-57.
15. Dinarello CA. Interleukin 1 and interleukin 18 as mediators of inflammation and the aging process. *Am J Clin Nutr* 2006; 83 (2): 447S-55S.
16. Tam CS, Clément K, Baur LA, Tordjman J. Obesity and low-grade inflammation: a paediatric perspective. *Obes Rev* 2010; 11 (2): 118-26.

17. Zorrilla EP, Sánchez-Alavez M, Sugama S, Brennan M, Fernández R, Bartfai T, et al. Interleukin-18 controls energy homeostasis by suppressing appetite and feed efficiency. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104 (26): 11097-102.
18. Pradhan AD, Manson JE, Rifai N, Buring JE, Ridker PM. C-reactive protein, interleukin 6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus. *JAMA* 2001; 286 (3): 327-34.
19. Vozarova B, Weyer C, Hanson K, Tataranni PA, Bogardus C, Pratley RE. Circulating interleukin-6 in relation to adiposity, insulin action, and insulin secretion. *Obes Res* 2001; 9 (7): 414-7.
20. Esposito K, Pontillo A, Ciotola M, Di Palo C, Grella E, Nicoletti G, et al. Weight Loss Reduces Interleukin-18 Levels in Obese Women. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87 (8): 3864-66.
21. Bustamante M, Nogués X, Mellibovsky L, Agueda L, Jurado S, Cáceres E, et al. Polymorphisms in the interleukin-6 receptor gene are associated with bone mineral density and body mass index in Spanish postmenopausal women. *Eur J Endocrinol* 2007; 157 (5): 677-84.
22. Zirikli A, Abdullah SM, Gerdes N, MacFarlane L, Schönbeck U, Khera A, et al. Interleukin-18, the metabolic syndrome, and subclinical atherosclerosis: results from the Dallas Heart Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007; 27 (9): 2043-9.
23. Smart MC, Dedoussis G, Yiannakouris N, Grisoni ML, Dror GK, Yannakoulia M, et al. Genetic variation within IL18 is associated with insulin levels, insulin resistance and postprandial measures. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2011; 21 (7): 476-84.
24. Brull DJ, Montgomery HE, Sanders J, Dhamrait S, Luong L, Rumley A, et al. Interleukin-6 gene -174g>c and -572g>c promoter polymorphisms are strong predictors of plasma interleukin-6 levels after coronary artery bypass surgery. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001; 21 (9): 1458-63.
25. Rafiq S, Frayling TM, Murray A, Hurst A, Stevens K, Weedon MN, et al. A common variant of the interleukin 6 receptor (IL-6r) gene increases IL-6r and IL-6 levels, without other inflammatory effects. *Genes Immun* 2007; 8 (7): 552-9.
26. Reich D, Patterson N, Ramesh V, De Jager PL, McDonald GJ, Tandon A, et al. Admixture mapping of an allele affecting interleukin 6 soluble receptor and interleukin 6 levels. *Am J Hum Genet* 2007; 80 (4): 716-26.
27. Hawkins GA, Robinson MB, Hastie AT, Li X, Li H, Moore WC, et al. The IL6R variation Asp(358)Ala is a potential modifier of lung function in subjects with asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2012; 130 (2): 510-5.
28. Qi L, Zhang C, van Dam RM, Hu FB. 2007. Interleukin-6 genetic variability and adiposity: associations in two prospective cohorts and systematic review in 26,944 individuals. *J Clin Endocrinol Metab* 92: 3618-25.
29. Terry CF, Loukaci V, Green FR. Cooperative influence of genetic polymorphisms on interleukin 6 transcriptional regulation. *J Biol Chem* 2000; 275 (24): 18138-44.
30. Qi L, Rifai N, Hu FB. Interleukin-6 receptor gene variations, plasma interleukin-6 levels, and type 2 diabetes in U.S. Women. *Diabetes* 2007; 56 (12): 3075-81.
31. Jones SA, Horiuchi S, Topley N, Yamamoto N, Fuller GM. The soluble interleukin 6 receptor: mechanisms of production and implications in disease. *FASEB J* 2001; 15 (1): 43-58.
32. Jones SA, Novick D, Horiuchi S, Yamamoto N, Szalai AJ, Fuller GM. C-reactive protein: a physiological activator of interleukin 6 receptor shedding. *J Exp Med* 1999; 189 (3): 599-604.
33. Liang XH, Cheung W, Heng CK, Wang DY. Reduced transcriptional activity in individuals with IL-18 gene variants detected from functional but not association study. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 338 (2): 736-41.
34. Arimitsu J, Hirano T, Higa S, Kawai M, Naka T, Ogata A, et al. IL-18 gene polymorphisms affect IL-18 production capability by monocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 342 (4): 1413-6.
35. Thompson SR, McCaskie PA, Beilby JP, Hung J, Jennens M, et al. IL18 haplotypes are associated with serum IL-18 concentrations in a population-based study and a cohort of individuals with premature coronary heart disease. *Clin Chem* 2007; 53 (12): 2078-85.
36. Sánchez E, Palomino-Morales RJ, Ortego-Centeno N, Jiménez-Alonso J, González-Gay MA, López-Nevot MA, et al. Identification of a new putative functional IL18 gene variant through an association study in systemic lupus erythematosus. *Hum Mol Genet* 2009; 18 (19): 3739-48.
37. Evans J, Collins M, Jennings C, van der Merwe L, Söderström I, Olsson T, et al. The association of interleukin-18 genotype and serum levels with metabolic risk factors for cardiovascular disease. *Eur J Endocrinol* 2007; 157 (5): 633-40.
38. Thompson SR, Sanders J, Stephens JW, Miller GJ, Humphries SE. A common interleukin 18 haplotype is associated with higher body mass index in subjects with diabetes and coronary heart disease. *Metabolism* 2007; 56 (5): 662-9.
39. Jiang CQ, Lam TH, Liu B, Lin JM, Yue XJ, Jin YL, et al. Interleukin-6 receptor gene polymorphism modulates interleukin-6 levels and the metabolic syndrome: GBCS-CVD. *Obesity (Silver Spring)* 2010; 18 (10): 1969-74.

40. Hsieh CH, Hung YJ, Wu LI, He CT, Lee CH, Hsiao FC, et al. Interleukin-6 receptor gene 48892 A/C polymorphism is associated with metabolic syndrome in female Taiwanese adolescents. *Genet Test Mol Biomarkers* 2012; 16 (12): 1376-81.
41. Pérez-Bravo F, Oyarzún AM, Soto F, López P, Eyzaguirre F, Codner E. Polymorphisms in the interleukin-6 receptor gene (Asp358Ala) and body mass index in Chilean women with type 1 diabetes. *Endocr Res* 2012; 37 (4): 197-202.
42. Centers for Disease Control and Prevention/National Center for Health Statistics (2000) CDC growth charts: United States. Available at: <http://www.cdc.gov/growth-charts/>.
43. National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Children and Adolescents. The fourth report on the diagnosis, evaluation, and treatment of high blood pressure in children and adolescents. *Pediatrics* 2004; 114 (2 Suppl 4th Report): 555-76.
44. Pawlik A, Kurzawski M, Drozdziak M, Dziedziejko V, Safranow K, Herczynska M. Interleukin-18 gene (IL18) promoter polymorphisms in patients with rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol* 2009; 38 (3): 159-65.
45. Grzegorzewska AE, Wobszal PM, Mostowska A, Jagodziński PP. Antibodies to hepatitis B virus surface antigen and interleukin 12 and interleukin 18 gene polymorphisms in hemodialysis patients. *BMC Nephrol* 2012; 13: 75.
46. Rasmussen L, Delabio R, Horiguchi L, Mizumoto I, Terazaki CR, Mazzotti D, et al. Association Between Interleukin 6 Gene Haplotype and Alzheimer's Disease: A Brazilian Case-Control Study. *J Alzheimers Dis* 2013; mayo 10 [Epub ahead of print].
47. Dudbridge F. Likelihood-based association analysis for nuclear families and unrelated subjects with missing genotype data. *Hum Hered* 2008; 66 (2): 87-98.
48. Hamid YH, Rose CS, Urhammer SA, Glümer C, Nolsøe R, Kristiansen OP, et al. Variations of the interleukin-6 promoter are associated with features of the metabolic syndrome in Caucasian Danes. *Diabetologia* 2005; 48 (2): 251-60.
49. Phillips CM, Goumidi L, Bertrais S, Ferguson JF, Field MR, Kelly ED, et al. Additive effect of polymorphisms in the IL-6, LTA, and TNF- α genes and plasma fatty acid level modulate risk for the metabolic syndrome and its components. *J Clin Endocrinol Metab* 2010; 95 (3): 1386-94.
50. Cheung BM, Ong KL, Tso AW, Leung RY, Cherny SS, Sham PC, et al. Relationship of plasma interleukin-6 and its genetic variants with hypertension in Hong Kong Chinese. *Am J Hypertens* 2011; 24 (12): 1331-7.
51. Krabbe KS, Pedersen M, Bruunsgaard H. Inflammatory mediators in the elderly. *Exp Gerontol* 2004; 39 (5): 687-99.
52. Grallert H, Huth C, Kolz M, Meisinger C, Herder C, Strassburger K, et al. IL-6 promoter polymorphisms and quantitative traits related to the metabolic syndrome in KORA S4. *Exp Gerontol* 2006; 41 (8): 737-45.
53. Olivieri F, Bonafè M, Giovagnetti S, Stecconi R, Cardelli M, Cavallone L, et al. In vitro IL-6 production by EBV-immortalized B lymphocytes from young and elderly people genotyped for -174 C/G polymorphism in IL-6 gene: a model to study the genetic basis of inflammation. *Mech Ageing Dev* 2003; 124 (4): 549-53.
54. Moleres A, Rendo-Urteaga T, Azcona C, Martínez JA, Gómez-Martínez S, Ruiz JR, et al. IL6 gene promoter polymorphism (-174G/C) influences the association between fat mass and cardiovascular risk factors. *J Physiol Biochem* 2009; 65 (4): 405-13.
55. Chapman BP, Khan A, Harper M, Stockman D, Fiscella K, Walton J, et al. Gender, race/ethnicity, personality, and interleukin-6 in urban primary care patients. *Brain Behav Immun* 2009; 23 (5): 636-42.
56. Rothhammer F, Lasserre E, Blanco R, Covarrubias E, Dixon M. Microevolution in human Chilean populations. IV. Shovel shape, mesial-palatal version and other dental traits in Pewenche Indians. *Z Morphol Anthropol* 1968; 60 (2): 162-9.
57. Escamilla MA, McInnes LA, Spesny M, Reus VI, Service SK, Shimayoshi N, et al. Assessing the feasibility of linkage disequilibrium methods for mapping complex traits: an initial screen for bipolar disorder loci on chromosome 18. *Am J Hum Genet* 1999; 64 (6): 1670-8.
58. Martin ER, Lai EH, Gilbert JR, Rogala AR, Afshari AJ, Riley J, et al. SNPping away at complex diseases: analysis of single-nucleotide polymorphisms around APOE in Alzheimer disease. *Am J Hum Genet* 2000; 67 (2): 383-94.
59. Akey J, Jin L, Xiong M. Haplotypes vs single marker linkage disequilibrium tests: what do we gain? *Eur J Hum Genet* 2001; 9 (4): 291-300.
60. Jefferis BJ, Papacosta O, Owen CG, Wannamethee SG, Humphries SE, Woodward M, et al. Interleukin 18 and coronary heart disease: prospective study and systematic review. *Atherosclerosis* 2011; 217 (1): 227-33.