
Polimorfismo -308 G/A en la región promotora del gen factor de necrosis tumoral alfa (TNFA) en diferentes subpoblaciones peruanas

THE -308 G/A TUMOR NECROSIS FACTOR ALPHA (TNFA) PROMOTER POLYMORPHISM IN DIFFERENT PERUVIAN SUBPOPULATIONS

Oscar Acosta^{1,2,4}, Luis Solano², Daniel Ore¹, Alberto Salazar Grana-
ra¹, José Sandoval^{1,3} y Ricardo Fujita^{1,4}

RESUMEN

El alelo mutante A del polimorfismo -308 Guanina/Adeni-
na (-308 G/A) del gen TNFA (citoquina Factor de Necrosis
Tumoral alfa), esta implicado a una mayor producción de la
proteína y asociado a la susceptibilidad a enfermedades in-
munológicas, infecciosas e inflamatorias. Nuestro objetivo es
establecer la distribución de frecuencias de los alelos y geno-
tipos de este polimorfismo en diferentes subpoblaciones pe-
ruanas para evaluar su utilidad como factor de riesgo a dichas
enfermedades. Se determinó los genotipos del polimorfismo
-308 G/A del gen TNF alfa mediante PCR-RFLP en el DNA
de 135 individuos de 7 grupos subpoblacionales: 20 mesti-
zos de Lima; 56 nativos amazónicos (44 de Andoas-Loreto,
y 12 de Amazonas); 59 nativos andinos (12 de Ancash, 10
de Cajamarca, 18 de Huarochiri-Lima y 19 de Puno). Los
resultados muestran que la frecuencia del alelo mutante A es
muy baja (máximo 12,5% en mestizos de Lima), o ausente en
las distintas subpoblaciones. Asimismo, no se detectó ningún
genotipo homocigoto AA en las 135 muestras estudiadas.

Una implicancia práctica de la baja frecuencia del alelo A
mutante en nuestra población sería su utilidad en los casos
donde su prevalencia esté asociado a la susceptibilidad a en-
fermedades inmunológicas, infecciosas e inflamatorias. Aun-
que otra consecuencia es que debemos buscar nuevos alelos
o variantes en este gen para asociarlos a la susceptibilidad a
tales enfermedades.

ABSTRACT

The mutant allele A of the -308 G/A polymorphism of
the gene TNFA (tumoral necrosis factor alpha) is invol-
ved to higher protein synthesis and associated to suscep-
tibility for immune, infectious and inflammatory diseases.
Our goal is to establish allelic and genotypes distribution
of this polymorphism in different Peruvian subpopulatio-
ns to assess its value as risk factor predictor for these diseases.
Polymorphism-308 G/A del gen TNF alfa was determined
by PCR-RFLP in the DNA of 7 subpopulation groups: 20
mestizos from Lima; 56 Amazonian natives (44 from An-
doas-Loreto and 12 from the Amazonas Department); 59
Andean natives (12 from Ancash, 10 from Cajamarca, 18 de
Huarochiri-Lima y 19 de Puno Departments).

The frequency of allele A was very low (at a maximum of
12,5%) or absent in different subpopulations. Moreover, no
homozygous (AA) was detected. A practical consequence
of the low frequency of allele A is that it can be useful if
associated to immunological, infectious and inflammatory
diseases. Another consequence indeed, is that we are urged
to find more frequent alleles showing association with these
diseases.

PALABRAS CLAVES

Factor necrosis tumoral, polimorfismo TNFA-308, alelos
TNFA -308 G/A, poblaciones peruanas.

-
1. Centro de Genética y Biología Molecular, Facultad de Medicina Humana, Universidad San Martín de Porres.
 2. Instituto de Medicina Tropical D.A. Carrión, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú.
 3. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brasil.
 4. Correspondencia: oacosta@yahoo.com, rfujita@usmp.edu.pe CGBM FMH, USMP. Alameda del Corregidor 1531 La Molina, Lima Perú. Tel 511-3652300 anexo 152.

INTRODUCCIÓN

El factor de Necrosis Tumoral alfa (TNF- α) es una citoquina proinflamatoria y un potente inmunomediador que ha sido implicado en la patogénesis de diversas enfermedades. Es una proteína sintetizada principalmente en los macrófagos y se une a receptores de membrana, sus principales funciones se asocian a la inmunidad del hospedero, con actividad antimicrobiana, antiviral y antitumoral y también se relaciona con la actividad inflamatoria¹.

El TNF- α también regula los procesos de crecimiento y desarrollo tisular, adhesión celular, favoreciendo la lipogénesis y la trigliceridemia, interviniendo en la producción de hormonas como el cortisol, interactúa con otras citoquinas proinflamatorias como por ejemplo con la IL1, involucrando a los órganos y sistemas del cuerpo. Por otra parte, la actividad del TNF- α puede producir efectos contrarios o dañinos en estados de shock y sobrerrespuesta inflamatoria.^{1,2}

En los individuos, los niveles de TNF- α son variables, influyendo en el espectro de las respuestas inmunológicas e inflamatorias. El aumento de los niveles se ha relacionado con enfermedades ligadas al Complejo Mayor de Histocompatibilidad (MHC), principalmente aquellos con componente autoinmune, inmune e inflamatorio como la artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico, diabetes tipos 1 y 2, obesidad, glaucoma, neurológicas, mentales, metabólicas, infecciones agudas y crónicas como la malaria, tuberculosis, etc.³⁻⁶

En ese contexto, se puede especular que las variantes de TNF- α pueden tener efectos benéficos o negativos en la respuesta inmune, inflamatoria, adhesión y desarrollo tisular y procesos metabólicos, afectando los niveles orgánico y sistémico.

El gen que codifica a TNF alfa (TNFA, N° OMIM 191160) está localizado en el brazo corto del cromosoma 6 (6p21), en el segmento correspondiente a la Clase III del MHC; y se han encontrado sitios polimórficos, tanto SNPs (polimorfismos de una sola base nucleotídica), como microsatélites en las regiones codificantes (exones) y no codificantes (intrones), así como en la región promotora del gen.⁷

Una de las mutaciones más importantes en el promotor, es la correspondiente a un SNP del tipo transición Guanina/Adenina en la posición -308 (-G308A) (Ver Figura 1). Eso significa que la guanina (G) es reemplazada por una adenina (A), dando lugar a dos alelos denominados TNF 1 (alelo G normal) y TNF 2 (alelo A mutante, mutación OMIM 191160.0004). Estas variantes son determinadas por la técnica PCR-RFLP mediante el corte (o no) con la enzima de restricción NcoI. Estudios in vitro indican que células con al menos un alelo A

presentan sobreexpresión o mayores niveles de la citoquina con respecto a las que tienen el alelo G. Aunque los estudios de actividad transcripcional de estos alelos, han sido contradictorios, aplicando técnicas más modernas y controlando los factores que la afectan, se ha confirmado que el alelo A mutante está asociado con altos niveles de TNF alfa comparado con el alelo G. Además, diversos estudios sugieren que el alelo A está significativamente ligado con los alelos del MHC y que producen altos niveles séricos de TNF alfa asociados a la severidad de las enfermedades.⁸

Numerosas investigaciones han intentado establecer asociaciones entre la susceptibilidad, resistencia y/o severidad de ciertas enfermedades y la presencia del polimorfismo -308 G/A del TNF alfa, principalmente estudios casos y controles, asumiendo el alelo A como factor de riesgo, aunque los resultados han sido variables en diferentes grupos poblacionales del mundo, lo que implica que la etnicidad es un factor por considerar para establecer factores de riesgo genético.^{1,9,10} En el Perú, se han reportado estudios sobre el polimorfismo-308 en el promotor del TNF y la susceptibilidad a la enfermedad de Chagas y tuberculosis, no encontrándose asociación, sin embargo, no se menciona el origen étnico.^{11,12}

En el contexto planteado, es de importancia conocer cual es la distribución de este polimorfismo-308 G/A en la región promotora del TNF alfa en diferentes subpoblaciones peruanas, caracterizada por su diversidad y mestizaje, por lo que se ha considerado determinar las frecuencias genotípicas y alélicas en diferentes grupos poblacionales de nuestro país. Este estudio representa una etapa inicial para caracterizar los perfiles inmunogenéticos a nivel molecular en la población peruana, es decir, establecer las bases poblacionales y posteriormente, evaluar las asociaciones de este polimorfismo con diferentes patologías.

MATERIALES Y MÉTODOS

Participantes

Los participantes fueron en total 135 personas, saludables, sin enfermedades crónicas, voluntarios, sin relación de parentesco, hombres y mujeres cuyas edades fluctuaban entre los 18 y 70 años. Los grupos incluidos fueron: 20 individuos mestizos de Lima, ubicación Costa central; 44 individuos de Loreto-Andoas, ubicación Selva norte; 12 individuos de Ancash, ubicación Sierra norte; 10 individuos de Cajamarca, ubicación Sierra norte; 18 individuos de Lima-Huarochiri, ubicación Sierra; 12 individuos de Amazonas, ubicación Selva norte, y 19 individuos de Puno, ubicación Sierra sur. Los participantes de Loreto-Andoas, Ancash, Cajamarca, Lima-

Huarochoirí, Amazonas y Puno son considerados originarios por propia declaración de los mismos y teniendo como mínimo 3 generaciones habitando los respectivos lugares. Todos los participantes firmaron el Consentimiento Informado aprobado por el Comité de Ética de la Facultad de Medicina de la USMP.

Análisis Molecular

El ADN genómico fue extraído de muestras sanguíneas o epitelio bucal, y procesado según técnicas estándar¹³ con algunas modificaciones: las células son lisadas y tratadas con proteinasa K a 37 °C por 24 horas. Se determinó los diferentes genotipos del polimorfismo -308 G/A del gen TNF alfa mediante la técnica PCR-RFLP. Se amplificó una secuencia de 107 pb, empleando cebadores específicos: Primer A1: 5' AGGCAATAGGTTTTGAGGGCCAT 3' y primer A2: 5' TCCTCCCTGCTCCCGGATTTCCG 3' con 35 ciclos (denaturación 94°C por 1', alineamiento 60°C por 1' y 72°C por 1' para la extensión).¹⁴

Los productos amplificados fueron digeridos con la enzima de restricción NcoI por 12 horas, sujetos a electroforesis en geles de poliacrilamida al 8% y luego teñidos con nitrato de plata, generándose bandas características para cada genotipo: GG (87 y 20 pb), AG (107, 87 y 20 bp) y AA (107 bp). (Ver Figura 2).

Análisis estadístico

Para la recolección de datos se tabularon los individuos, su origen (lugar y estatus mestizo o nativo). Las frecuencias genotípicas y alélicas fueron obtenidas por conteo directo. Se evaluaron las frecuencias genotípicas observadas según lo esperado bajo la hipótesis del equilibrio de Hardy-Weinberg.

Para comparar y establecer diferencias o similitudes de las frecuencias genotípicas y alélicas del TNF alfa -308 G/A entre los grupos subpoblacionales, y entre la población peruana tomada como conjunto (n=135) con las reportadas para otras poblaciones del mundo, se utilizó la prueba X2 o el test exacto de Fisher según el caso, con un $\alpha = 0,05$. Para los cálculos respectivos se utilizaron el paquete estadístico SPSS 14.0 y el programa de genética poblacional Arlequín 3.11.

RESULTADOS

La distribución de las frecuencias genotípicas y alélicas del TNF -308 en las muestras de los 7 grupos subpoblacionales peruanos, se reportan en la Tabla 1. Las frecuencias geno-

típicas observadas en los 3 grupos en la que se pudo realizar el cálculo (Loreto-Andoas, Lima-Huarochoirí, mestizos Lima) siguen una distribución consistente con el equilibrio de Hardy-Weinberg ($p > 0.05$) según lo calculado por el programa Arlequín. Esto indica que las frecuencias observadas no muestran diferencias significativas con las frecuencias esperadas, lo que significa que no están bajo la influencia de factor(es) que las modifiquen.

La presencia de un sólo genotipo, el GG, en las muestras de Ancash, Cajamarca, Amazonas y Puno no permite el cálculo de equilibrio de Hardy-Weinberg, por no cumplir la premisa de tener al menos 2 genotipos de los 3 posibles.

El alelo G es el más común en el conjunto de los grupos poblacionales (n=135) estudiados (97.4%) mientras que el alelo A tiene una frecuencia muy baja (2.6%); el grupo de Lima mestizos es el que tiene menor frecuencia del alelo G (87.51%). El genotipo homocigoto GG es el más frecuente en los 7 grupos (94.8% en conjunto), siendo el único en las muestras de Ancash, Cajamarca, Amazonas y Puno (100%), y el genotipos AA no se encuentra en ninguna de las muestras evaluadas.

La comparación de las frecuencias genotípicas y alélicas, utilizando las pruebas X2 o el test exacto de Fisher, muestra diferencias significativas ($p < 0.05$) sólo cuando se comparan la muestra de Lima mestizos (la más diversa) con las de Loreto-Andoas, y no es significativo ($p > 0.05$) cuando se compara con Lima-Huarochoirí. Las muestras de Lima-mestizos no se compararon estadísticamente con las de Ancash, Cajamarca, Puno y Amazonas, debido a la ausencia de mutación (alelo A) en la posición -308 del gen TNFA, aunque en la inspección de los datos muestran diferencias.

En la tabla 2 se comparan las frecuencias alélicas del TNF -308 G/A en la población peruana (7 grupos, n=135) con las reportadas para otras poblaciones del mundo. El análisis de X2 y el test exacto de Fisher muestra diferencias significativas ($p < 0.05$) con las poblaciones de África, Europa, Asia, Oceanía, excepto con las poblaciones aborígenes de América y Japón ($p > 0.05$).

DISCUSIÓN

Esta investigación pretende reportar las frecuencias genotípicas y alélicas del TNF -308 G/A en diferentes grupos subpoblacionales del Perú, considerando el origen étnico. Considerando que hay una correlación entre genotipo y riesgo de enfermedad inmunológica, infecciosa o inflamatoria¹, ello será importante si se establece una línea de base

de estudios acerca del impacto de los diferentes genotipos y alelos en las poblaciones peruanas.

El genotipo AA, que es asociado con un mayor riesgo para distintas enfermedades según lo reportado para otras poblaciones del mundo^{9,10,15}, no se encuentra presente en las muestras evaluadas. El genotipo heterocigoto AG sólo se detectó en las muestras de Loreto-Andoas, Lima-Huaroquí y Lima mestizos, globalmente con un 5.2%, lo cual concuerda con lo observado en otras poblaciones nativa americanas, incluyendo las de Perú^{10,11,16,17}.

En lo que respecta a las frecuencias alélicas en los 7 grupos subpoblacionales, el alelo G es el más frecuente, pero un poco menor en los mestizos de Lima (87.5,1%), concordante con lo reportado para poblaciones mestizas¹⁵, así como también para otras poblaciones como las nativas de América^{10,11,16,17}.

Por otra parte, la frecuencia del alelo A, considerado de riesgo para la patogénesis de diferentes enfermedades¹, es observado con una proporción de 12 % en los mestizos de Lima similares a poblaciones de Africa y Europa^{10,18-22}.

Las frecuencias alélicas del polimorfismo TNF -308 G/A de los 7 grupos peruanos en conjunto (n=135) y las reportadas para otras poblaciones, son mostradas en la tabla 2. En general, las frecuencias alélicas siguen la tendencia observada en el mundo, es decir: alelo G > alelo A^{10,15}.

La frecuencia del alelo G encontrada en este estudio es del 97,4%, una de los más altos con respecto a otras poblaciones del mundo, sólo superado por la de los japoneses y mestizos del noreste de México^{17,23,25}.

Es posible que la baja frecuencia del alelo A en las poblaciones peruanas sea sólo el reflejo de su baja distribución en toda la población mundial, donde en muestra una relativa mayor proporción en poblaciones de origen caucásico.

Es importante considerar las diferencias encontradas entre las frecuencias genotípicas y alélicas de la muestra de Lima mestizos (con mayor componente caucásico) con las de otras regiones de nuestro país, con menos o nula representación del alelo A.

Ello podría tener implicancias en los estudios de asociación genética con enfermedades, específicamente los de tipo casos-controles y de cohortes, por ejemplo al comparar subpoblaciones de distinta procedencia étnica y llegar a inferencias erróneas.

Específicamente, las frecuencias alélicas de la población peruana comparadas con las del continente americano, son similares a los

Quechua de Cuzco, y muestras de Arequipa (Perú), Paeces de Colombia, Mexicanos y nativos de Canadá (p > 0.05)^{9,10,11,16,17}, pero con diferencias significativas (p < 0.05) respecto a las poblaciones de Africa, Europa, Oceanía y Asia, con excepción de Japón^{10,15,18,19,20,21,22,23,25,26} (Ver Tabla 2).

El alelo A mutante en la población peruana, tiene una de las frecuencias más bajas respecto a la reportadas en otras regiones del mundo, siendo en contraste, una de las más altas (22%) la reportada en los caucásicos de Australia²⁶. Ello probablemente se deba al importante acervo genético aborigen en nuestras poblaciones mestizas y menor contribución caucásica.

Así, el alelo A del polimorfismo TNFalfa -308 G/A que es considerado como un factor de riesgo para diversas enfermedades en el mundo¹, presenta una frecuencia baja en población peruana.

A pesar que este estudio genético poblacional nos da un indicador del polimorfismo TNFA -308 en poblaciones peruanas; se debe considerar como preliminar, pues es necesario incluir más poblaciones mestizas y nativas. Sin embargo, eso no lo excluye para futuros estudios tipo casos controles y de cohortes considerando el origen étnico.

Por otro lado en las poblaciones peruanas podrían haber otras variantes desconocidas en el gen TNFA asociadas a las enfermedades mencionadas, por lo que es necesario investigar mutaciones nuevas o “propias” en nuestra población.

CONCLUSIONES

El genotipo GG y el alelo G para el polimorfismo TNF alfa -308 G/A es el más frecuente en las muestras evaluadas de Lima mestizos, Loreto-Andoas, Ancash, Cajamarca, Lima-Huaroquí, Amazonas y Puno, con muy baja frecuencia del genotipo AG y el alelo A, y ausencia del genotipo AA.

Las frecuencias genotípicas y alélicas no presentan variabilidad (genotipo homocigoto GG) en 4 grupos estudiadas, detectándose el alelo A solamente entre los mestizos de Lima -la mas frecuente- y las de Loreto-Andoas y Lima-Huaroquí.

Las frecuencias genotípicas y alélicas tomadas en conjunto como población peruana (n=135), muestran diferencias y similitudes con otras poblaciones del mundo, destacándose que el alelo G tiene una de las frecuencias más altas y el alelo A una de las mas bajas respecto a otras regiones.

Este estudio sienta las bases poblacionales de la distribución del polimorfismo -308 G/A de la región promotora del gen TNF en población peruana.

Una implicancia práctica de la baja frecuencia del alelo A mutante en nuestra población sería su utilidad para evaluar si una mayor frecuencia en pacientes estaría o no asociada con mayor susceptibilidad a enfermedades inmunológicas, infecciosas e inflamatorias.

También se sugiere identificar nuevas variantes en TNFA que eventualmente podrían estar asociadas a esas enfermedades, y consecuentemente, generar más información sobre este locus, que permitirá aportar a la comprensión de los mecanismos inmunogenéticos en nuestra población.

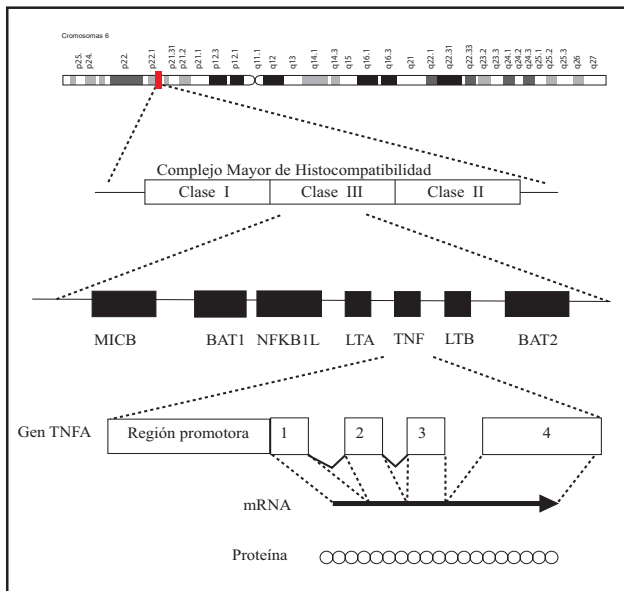


Figura 1. Esquema de la localización y estructura del gen TNFA. Ubicado en el brazo corto del cromosoma 6 (6p21.3), Complejo Mayor de Histocompatibilidad clase III. Adaptado de Bayley J et al., 2004 y la pagina web de GeneCards (<http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=TNF>).

MICB (Major histocompatibility complex class I chain-related gene B), BAT1 (HLA B associated transcript 1), BAT2 (HLA B associated transcript 2), NFKB1L (Nuclear factor NF-kappa-B p105 subunit), LTA (Lymphotoxin alpha), LTB (Lymphotoxin beta).

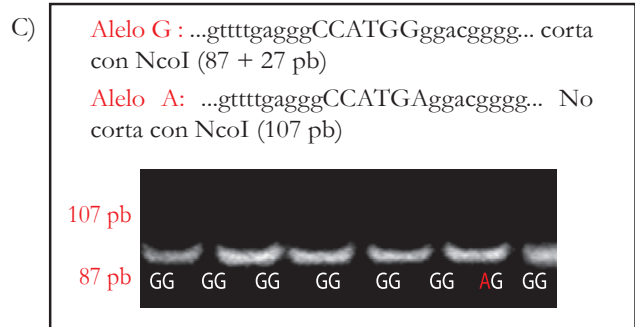
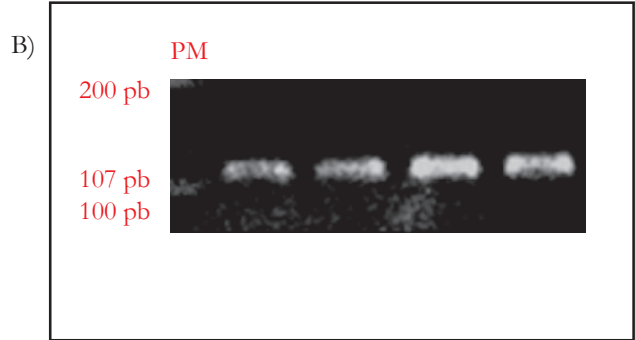
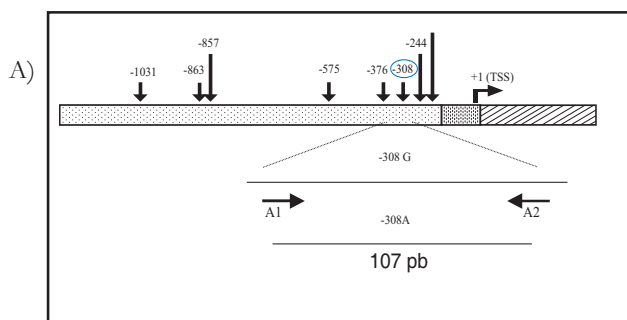


Figura 2. A) Esquema de región promotora del gen TNFA con diferentes polimorfismos y la posición -308 señalada con los alelos G y A, así como la posición de los primers específicos usados para la amplificación del segmento de 107 pares de bases que contiene el nucleótido -308.

La numeración en la región promotora es descendiente (signo -) considerando el +1 que es el sitio de inicio de la transcripción (TSS). B) Gel de agarosa al 1.5% teñido con bromuro de etidio, con los productos de amplificación de 107 pb obtenidos por PCR. C) Esquema explicativo y fragmentos de la técnica RFLP (restriction fragment length polymorphism): el amplificado es digerido con la enzima NcoI (solo corta en la secuencia CCATGG). Fragmentos de diferentes individuos visualizados en gel de poli-acrilamida al 8%, teñido con nitrato de plata. Homocigotos normales GG (87pb) y heterocigoto AG (107/87pb); no se muestran las bandas de 20 pb. PM = Marcador de peso molecular de 100 pb, pb= pares de bases.

Tabla 1.

Frecuencias genotípicas y alélicas del polimorfismo -308 G/A en la región promotora del gen TNF alfa en diferentes muestras peruanas.

MUESTRA	n	FRECUENCIAS GENOTÍPICAS (n)			Equilibrio Hardy - Weinberg ^a	FRECUENCIAS ALELICAS (2n)	
		Genotipo GG	Genotipo AG	Genotipo AA	p	Alelo G	Alelo A
Loreto - Andoas b	44	0.977 (43)	0.023 (1)	0.000 (0)	1.00 (ns)	0.989 (87)	0.011 (1)
Ancash	12	1.000 (12)	0.000 (0)	0.000 (0)	-	1.000 (24)	0.000 (0)
Cajamarca	10	1.000 (10)	0.000 (0)	0.000 (0)	-	1.000 (20)	0.000 (0)
Lima - Huarochiri	18	0.944 (17)	0.056 (1)	0.000 (0)	1.00 (ns)	0.972 (35)	0.028 (1)
Amazonas	12	1.000 (12)	0.000 (0)	0.000 (0)	-	1.000 (24)	0.000 (0)
Puno b	19	1.000 (19)	0.000 (0)	0.000 (0)	-	1.000 (38)	0.000 (0)
Lima mestizos b	20	0.750 (15)	0.250 (5)	0.000 (0)	1.00 (ns)	0.875 (35)	0.125 (5)
TOTAL	135	0.948 (128)	0.052 (7)	0.000 (0)	1.00 (ns)	0.974 (263)	0.026 (7)

a. Las distribuciones genotípicas observadas en los grupos subpoblacionales en las que se pudo realizar el cálculo, son concordantes con lo esperado bajo la hipótesis de equilibrio de Hardy-Weinberg ($p > 0.05$, no significativo=ns).

b. La comparación de las frecuencias genotípicas y alélicas muestran diferencias significativas ($p < 0.05$), sólo cuando se comparan la muestra de Lima mestizos (la más diversa) con las de Loreto-Andoas y Puno, según el test exacto de Fisher.

Tabla 2.

Comparación de las frecuencias alélicas del polimorfismo -308 G/A en la región promotora del gen TNF alfa en la población peruana en conjunto (n=135) con otras poblaciones del mundo.

Continente	POBLACION	n	Frecuencias (2n)		p ^a	Referencia
			Alelo G	Alelo A		
América	Perú, 7 grupos	135	0.974 (263)	0.026 (7)	-	Presente estudio
	Perú, Quechuas-Cuzco	27	1.000 (54)	0.000 (0)	-	Baena et al., 2002 10
	Perú, Arequipa	87	0.943 (164)	0.057 (10)	ns	Beraun et al., 1998 11
	Colombia, Paeces	21	1.000 (42)	0.000 (0)	-	Baena et al., 2002 10
	México, noreste	103	0.976 (201)	0.024 (5)	ns	Sánchez et al., 2008 17
	Canadá, aborígenes	100	0.965 (193)	0.035 (7)	ns	Larcombe et al., 2005 16
	Canadá, caucásicos	100	0.825 (165)	0.175 (35)	0.000	Larcombe et al., 2005 16
	Chile, Santiago	166	0.913 (303)	0.087 (29)	0.002	Cuenca et al., 2001 9
Africa	Malawi	33	0.879 (58)	0.121 (8)	0.003	Baena et al., 2002 10
	Nigeria	27	0.870 (57)	0.130 (7)	0.008	Baena et al., 2002 10
Europa	España	102	0.902 (184)	0.098 (20)	0.001	Vinasco et al., 1997 18
	Gran Bretaña	220	0.811 (357)	0.189 (83)	0.000	Howell et al., 2002 21
	Finlandia	694	0.880 (1221)	0.120 (167)	0.000	Keso et al., 2001 20
	Francia	534	0.843 (900)	0.157 (168)	0.000	Herrmann et al., 1998 19
	Polonia	351	0.829 (582)	0.171 (120)	0.000	Czerski et al., 2008 22
Asia	Corea	581	0.904 (1050)	0.096 (112)	0.000	Young et al., 2003 23
	Japón	125	0.992 (248)	0.008 (2)	ns	Young et al., 2003 23
	China, Han	164	0.933 (306)	0.067 (22)	0.022	Young et al., 2003 23
	China, Hong Kong	121	0.926 (224)	0.074 (18)	0.002	Lee et al., 2000 25
Oceanía	Australia, caucásicos	108	0.778 (168)	0.222 (48)	0.000	Milner et al., 1999 26
	Australia, aborígenes	999	0.930 (1858)	0.070 (140)	0.008	Valente et al., 2009 15

a. p es el valor de significancia después de comparar las frecuencias alélicas de la población peruana en conjunto (n=135) con las respectivas poblaciones del mundo, según la prueba X² o el test exacto de Fisher ($p < 0.05$ denota diferencias significativas, ns = diferencias no significativas).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Elahi M, Asotra K, Matata B, Mastana S. Tumor necrosis factor alpha -308 gene locus promoter polymorphism: an analysis of association with Health and disease. *Biochim Biophys Acta* 2009, 1792(3): 163-72.
2. Chen X, Xun K, Chen L, Wang Y. TNF-alpha, a potent lipid metabolism regulator. *Cell Biochem Funct* 2009; 27: 407-416.
3. Lin H, Tsai F, Chen W, Shi Y, Hsu Y, Tsai S. Association of tumour necrosis factor alfa -308 gene polymorphism with primary open-angle glaucoma in Chinese. *Eye* 2003, 17: 31-34.
4. Aguillón J, Cruzat A, Cuenca J, Cuchacovich M. El polimorfismo genético del factor de necrosis tumoral alfa como factor de riesgo en patología. *Rev Med Chile* 2002, 130(9): 1043-1050.
5. Boin F, Zanardini R, Pioli R, Altamura C, Maes M, Gennarelli M. Association between -G308A tumor necrosis factor alfa gene polymorphism and schizophrenia. *Mol Psychiatry* 2001, 6: 79-82.
6. McGuire W, Hill A, Allsop C, Greenwood B, Kwiatkowski D. Variation in the TNF-alpha promoter region associated with susceptibility to cerebral malaria. *Nature* 1994, 371: 508-511.
7. Bayley J, Ottenhoff T, Verweij C. Is there a future for TNF promoter polymorphisms?. *Genes Immunity* 2004, 5: 315-329.
8. Karimi M, Goldie L, Cruickshank M, Moses E, Abraham L. A critical assessment of the factors affecting reporter gene assays for promoter SNP function: a reassessment of -308 TNF polymorphism function using a novel integrated reporter system. *Eur J Hum Genet* 2009, 1-9.
9. Cuenca J, Pérez C, Aguirre A, Schiattino I, Aguillón C. Genetic polymorphism at position -308 in the promoter region of the tumor necrosis factor (TNF): implications of its allele distribution on susceptibility or resistance to diseases in the Chilean population. *Biol Res* 2001, 34 (3-4).
10. Baena A, Leung J, Sullivan A, Landires J, Vasquez-luna N, Quiñones-Berrocal J, et al. TNF- α promoter single nucleotide polymorphisms are markers of human ancestry. *Genes Immunity* 2002, 3: 482-487.
11. Beraún Y, Nieto A, Collado M, González, Martín J. Polymorphisms at tumor necrosis factor (TNF) loci are not associated with Chagas' disease. *Tissue Antigens* 1998, 52: 81-83.
12. Castro J, Taype A, Espinoza J, Accinelli R. Producción de TNF-alfa por monocitos de pacientes con formas clínicas diversas de tuberculosis y polimorfismo genético en el locus humano -308 TNF-alfa en el Perú. *Enfermedades Torax* 2003, 46(2): 81-94.
13. Miller S, Dykes D, polesky F. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Acid Nucl Res* 1988, 16(3): 1915.
14. Wilson A, Digiovine F, Blakemore A, Duff G. Single base polymorphism in the human tumour necrosis factor alpha (TNF alpha) gene detectable by NcoI restriction of PCR product. *Hum Mol Genetic* 1992, 1: 353.
15. Valente F, Tan C, Temple S, Phipps M, Witt C, Kaur G, et al. The evolution and diversity of TNF block haplotypes in European, Asian and Australian aboriginal populations. *Genes Immunity* 2009, 10: 607-615.
16. Larcombe L, Rempel J, Dembinski I, Tinckam, Rigatto C, Nickerson P. Differential cytokine genotype frequencies among Canadian Aboriginal and Caucasian populations. *Genes Immunity* 2009, 10: 607-615.
17. Sánchez N, Buenfil J, Molina C, Borjas O, Castillo A, Bustamante A, et al. Frequency of S and Z alleles for alpha-1-antitrypsin and tumor necrosis factor alpha -308 promoter polymorphism in northeastern Mexico. *Allergy Asthma Proc* 2008, 29:406-410.
18. Vinasco J, Beraún Y, Nieto A, Fraile A, Mataran L, Pareja E, Martín J: Polymorphism at the TNF loci in rheumatoid arthritis. *Tissue Antigens* 1997, 49:74-8.
19. Herrmann S, Ricard S, Nicaud V, et al. Polymorphisms of the tumor necrosis factor alpha, coronary heart disease and obesity. *Eur J Clin Invest* 1998, 28: 59-66.
20. Keso T, Perola M, Laippala P et al. Polymorphisms within the tumor necrosis factor locus and prevalence of coronary artery disease in middle-aged men. *Atherosclerosis* 2001, 154:691-697.
21. Howell W, Turner S, Collins A, Bateman A, Theaker J. Influence of TNF alpha and LT alpha single nucleotide polymorphisms on susceptibility to and prognosis in cutaneous malignant melanoma in the British population. *Eur J Immunogenet.* 2002, 29(1):17-23.
22. Czerski P, Rybakowski F, Kapelski P, Rybakowski J, Dmitrzak-Weglarz M, Leszczynska-Rodziewicz A, et al. Association of tumor necrosis factor -308G/A promoter polymorphism with schizophrenia and bipolar affective disorder in a Polish population. *Neuropsychobiology* 2008, 57: 88-94.

23. Young J, Kim H. Frequencies of the tumor necrosis factor polymorphisms in the Korean population. *Hereditas* 2003, 139: 184-188.
24. Cavalli-Sforza, Menozzi, Piazza. The history and geography of human genes. 1994. Princeton NJ, Princeton University Press.
25. Lee S, Pu y, Thomas G, Lee Z, Tomlinson B, Cockram C, Critchley J, Chan J. Tumor necrosis factor alpha gene G-308A polymorphism in the metabolic syndrome. *Metabolism* 2000, 49: 1021-1024.
26. Milner C, Craig J, Hussey N, Norman R. No association between the -308 polymorphism in the tumour necrosis factor α (TNF α) promoter region and polycystic ovaries. *Mol Hum Reprod* 1999, 5: 5-9.