

**CINTIA CRISTINA PALU**

**ANÁLISE DA DISTRIBUIÇÃO ALÉLICA E HAPLOTÍPICA DO GENE *IL6*  
NA POPULAÇÃO MUNDIAL**

**Monografia apresentada à disciplina Estágio  
Em, como requisito parcial à conclusão do  
Curso de Bacharelado e Licenciatura em  
Ciências Biológicas, Setor de Ciências  
Biológicas, Universidade Federal do Paraná**

**Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Luiza Petzl-Erler**

**CURITIBA**

**2007**

## **AGRADECIMENTO**

À professora Maria Luiza pela oportunidade, ensinamentos e orientação.

Aos meus pais e irmã, pela compreensão e paciência, principalmente pelas suas últimas três noites mal dormidas.

Aos meus amigos, que muito me apoiaram e ajudaram, especialmente Dil, Fer, Kerly Aninha e Nathy.

Aos pessoal do LGMH, em especial Dani, Liana e Patrícia pela pronta ajuda, e certamente ao Gabriel, meu parceiro desde o início.

À Dr<sup>a</sup> Noemi pelas dicas iniciais e a K.B por todas as outras.

Aos professores Nina e João Carlos, membros da banca, também por seus ensinamentos.

Ao meu maior amigo, Rafa, seu apoio foi essencial, tanto quanto sua paciência e incentivo nos momentos de crise!

Obrigada!

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE ILUSTRAÇÕES</b> .....	<b>iv</b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS</b> .....	<b>v</b>
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>1</b>
<b>2 REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	<b>2</b>
2.1 ASPECTOS GERAIS DA IL-6 .....	2
2.2 GENE <i>IL6</i> .....	3
2.2.1 Polimorfismo do Gene <i>IL6</i> , Posição -174 .....	6
2.2.1.1 Patologias relacionadas ao SNP <i>IL6</i> -174 G>C .....	6
2.2.1.2 Patologias relacionadas aos haplótipos da região promotora do gene <i>IL6</i> .	8
2.2.1.3 Polimorfismos em populações .....	9
2.3 POPULAÇÃO PARANAENSE .....	11
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>13</b>
3.1 ANÁLISE DE AMOSTRA DA POPULAÇÃO CURITIBANA .....	13
3.1.1 Reação em Cadeia da Polimerase – Polimorfismo de Comprimento dos Fragmentos de Restrição (PCR-RFLP) .....	13
3.1.2 Análise Estatística .....	14
3.2 ANÁLISE DA POPULAÇÃO MUNDIAL .....	15
3.2.1 ANÁLISE HAPLOTÍPICA .....	15
<b>4 RESULTADOS</b> .....	<b>17</b>
4.1 POPULAÇÕES BRASILEIRAS .....	17
4.2 POPULAÇÕES MUNDIAIS .....	18
<b>5 DISCUSSÃO</b> .....	<b>22</b>
<b>6 CONCLUSÃO</b> .....	<b>26</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>27</b>

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1	-	RELAÇÕES FILOGENÉTICAS DOS HAPLÓTIPOS DO GENE <i>IL6</i>	<b>4</b>
QUADRO 1	-	FREQUÊNCIAS HAPLOTÍPICAS DA REGIÃO PROMOTORA DO <i>IL6</i> EM DIFERENTES AMOSTRAS POPULACIONAIS .....	<b>5</b>
TABELA 1	-	FREQUÊNCIAS GENOTÍPICAS E ALÉLICA PARA O SNP -174 DO GENE <i>IL6</i> EM DIFERENTES POPULAÇÕES MUNDIAIS .....	<b>9</b>
TABELA 2	-	ANCESTRALIDADE DAS POPULAÇÕES CAUCASÓIDE E MULATA PARANAENSES .....	<b>12</b>
FIGURA 2	-	IDENTIFICAÇÃO DOS GENÓTIPOS DE <i>IL6</i> -174 ATRAVÉS DE PCR-RFLP COM <i>BsI</i> .....	<b>14</b>
TABELA 3	-	FREQUÊNCIAS GENOTÍPICAS E ALÉLICA DA POSIÇÃO -174(G>C) EM AMOSTRAS DA POPULAÇÃO BRASILEIRA .....	<b>17</b>
QUADRO 2	-	VALORES DE <i>P</i> (PROBABILIDADE) RESULTANTES DA COMPARAÇÃO DAS FREQUÊNCIAS ALÉLICAS DA POSIÇÃO -174(G>C) ENTRE AMOSTRAS DA POPULAÇÃO BRASILEIRA....	<b>17</b>
TABELA 4	-	FREQUÊNCIAS GENOTÍPICAS E ALÉLICA PARA O SNP -174 DO GENE <i>IL6</i> EM DIFERENTES POPULAÇÕES MUNDIAIS, AGRUPADAS GEOGRAFICAMENTE .....	<b>19</b>
TABELA 5	-	FREQUÊNCIAS GENOTÍPICAS E ALÉLICA PARA OS SNPs -597 e -572 DO GENE <i>IL6</i> EM DIFERENTES POPULAÇÕES MUNDIAIS	<b>21</b>

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CRBP	-	proteína celular ligante de retinol
DMT2	-	Diabetes Melito tipo 2
dNTP	-	desóxi-ribonucleotídeo
gp130	-	glicoproteína 130
HTLV-1	-	Vírus Linfotrópico T Humano Tipo I
IL-1	-	Interleucina 1
IL-2	-	Interleucina 2
IL-2R	-	Receptor de Interleucina 2
IL-6	-	Interleucina 6
IL-6R	-	Receptor da Interleucina 6
IL-6R $\alpha$	-	Receptor $\alpha$ da Interleucina 6
MS	-	Mato Grosso do Sul
NFIL6	-	fator nuclear de Interleucina 6
NF $\kappa$ B	-	fator nuclear <i>kappa</i> B
PCR	-	Reação em Cadeia da Polimerase
PR	-	Paraná
RFLP	-	Polimorfismo de Comprimento dos Fragmentos de Restrição
SNP	-	Polimorfismo de Nucleotídeo Único
SP	-	São Paulo
TNF- $\alpha$	-	fator de necrose tumoral- $\alpha$

## 1 INTRODUÇÃO

As citocinas são um grupo de proteínas multifuncionais que têm como principal função a sinalização entre células do sistema imune; por apresentarem tal característica, vêm se buscando relacionar as suas variações genéticas com as respostas imunes individuais (JORDANIDES et al., 2000). A interleucina-6 (IL-6) é uma citocina pleiotrópica, que auxilia a coordenar as respostas do organismo contra a infecção (JANEWAY et al., 2002), diferenciação e ativação de células B e T, entre outros (KELLER et al., 1996). Um dos motivos de sua vasta ação é a expressão de seu receptor em muitos tecidos e células (KISHIMOTO et al., 1995).

Dentre os nucleotídeos polimórficos da região promotora do gene *IL6*, o mais estudado é o -174(G>C) (OLOMOLAYIE<sup>1</sup>, WOOD e BIDWELL apud PEREIRA, 2004) cujos alelos vêm sendo relacionados a predisposição a diversas doenças. O alelo -174C é provavelmente o mais recente (FISHMAN et al., 1998), apresentando frequência distintas de acordo com as populações – é mais comum em europeus e descendentes; raro em orientais, africanos e ameríndios.

Apesar de diversos estudos relacionando este polimorfismo de nucleotídeo único (SNP) e demais variações do *IL6*, não existe consenso entre os autores quanto ao fenótipo determinado pelos seus alelos e/ou haplótipos. A expressão deste gene é provavelmente influenciada pelos haplótipos do indivíduo e não pelos alelos de cada SNP individualmente (Terry et al., 2000).

Realizou-se análise da distribuição mundial dos SNPs -597(G>A), -572(G>C) e -174(G>C) e seus haplótipos, visando compreender sua variação entre as populações. Foi estabelecido protocolo para posterior tipagem da posição -174(G>C) numa amostra da população curitibana.

<sup>1</sup> OLOMOLAYIE, O. O.; WOOD, N.A.P.; BIDWELL, J.L. A novel NlaIII polymorphism in the human IL-6 promoter, *European Journal of Immunogenetics*, v. 25, p. 267, 1998.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 ASPECTOS GERAIS DA IL-6

As citocinas são caracteristicamente pleiotrópicas e redundantes – possuem inúmeras funções biológicas, atuando em diversos tecidos e células, as diferentes citocinas apresentam por vezes ações em comum (KISHIMOTO et al., 1995). A IL-6 é uma citocina multifuncional que auxilia a coordenar as respostas do organismo contra a infecção, induzindo hepatócitos à síntese das proteínas de fase aguda (proteína C-reativa, fibrinogênio, antitripsina- $\alpha_1$ ), supressão da produção de albumina; aumentando a temperatura corpórea (atuando no hipotálamo) e mobilizando neutrófilos. (JANEWAY et al., 2002; NAKA, NISHIMOTO e KISHIMOTO, 2002). Atua também na diferenciação de células B e consequente produção de imunoglobulinas, proliferação e diferenciação de células T e, junto com a IL-1, induz a diferenciação destas em células T citolíticas e ativação das células assassinas naturais (KELLER et al., 1996).

A IL-6 também mantém o crescimento de hepatócitos transformados e linhagens celulares de mieloma e em cultura de tecidos (OPPENHEIM & RUSCETTI, 1997). Induz a expressão de receptores de interleucina 2 (IL-2R) e produção de interleucina 2 (IL-2), síntese de hormônio adrenocorticotrópico, secreção de gonadotrofina coriônica em trofoblastos, formação de osteoclastos, reabsorção óssea, diferenciação de algumas células nervosas (KISHIMOTO et al., 1995).

Esta citocina pode ser produzida por diversos tipos celulares, linfóides ou não, como as células B e T, monócitos, fibroblastos, queratinócitos, células endoteliais, mesangiais e tumorosas. (NAKA, NISHIMOTO e KISHIMOTO, 2002). Aproximadamente 15-35% da IL-6 circulante é produzida pelo tecido adiposo, consequentemente obesidade está associada ao aumento dos níveis séricos desta citocina (VILLUENDAS et al., 2002).

A transcrição desta molécula é fortemente regulada pelo fator nuclear de Interleucina 6 (NFIL6), fator nuclear  $\kappa$  B (NF $\kappa$ B), Fos/Jun, proteína celular ligante de retinol (CRBP) e receptor glicocorticóide (TERRY et al., 2000). O fator de necrose tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), IL-1, endotoxinas bacterianas e catecolaminas estimulam sua produção; glicocorticóides e estrogênio a suprimem (HAMID et al.,

2005). O polipeptídeo IL-6 humano contém 212 aminoácidos e a proteína madura, 184 (KELLER et al., 1996).

O seu receptor (IL-6R) é constituído por uma cadeia  $\alpha$  (IL-6R $\alpha$ ), e uma cadeia  $\beta$  transmembrana, a glicoproteína 130 (gp130, também denominada CD130). Esta glicoproteína é expressa em muitos tecidos e é comum à transdução de sinais de diversas citocinas, caracterizando assim, a pleiotropia e redundância das mesmas. A IL-6 inicialmente forma um complexo com o IL-6R $\alpha$ , porém a sinalização ocorre apenas após a interação deste complexo com a gp130 (KISHIMOTO et al., 1995; NAKA, NISHIMOTO e KISHIMOTO, 2002; BOULANGER et al., 2003). Em células que não apresentam o IL-6R $\alpha$ , expressando apenas gp130, a resposta biológica pode ser induzida pela ligação do complexo formado pela IL-6 e o IL-6R $\alpha$  sob forma solúvel (KALLEN, 2002).

## 2.2 GENE *IL6*

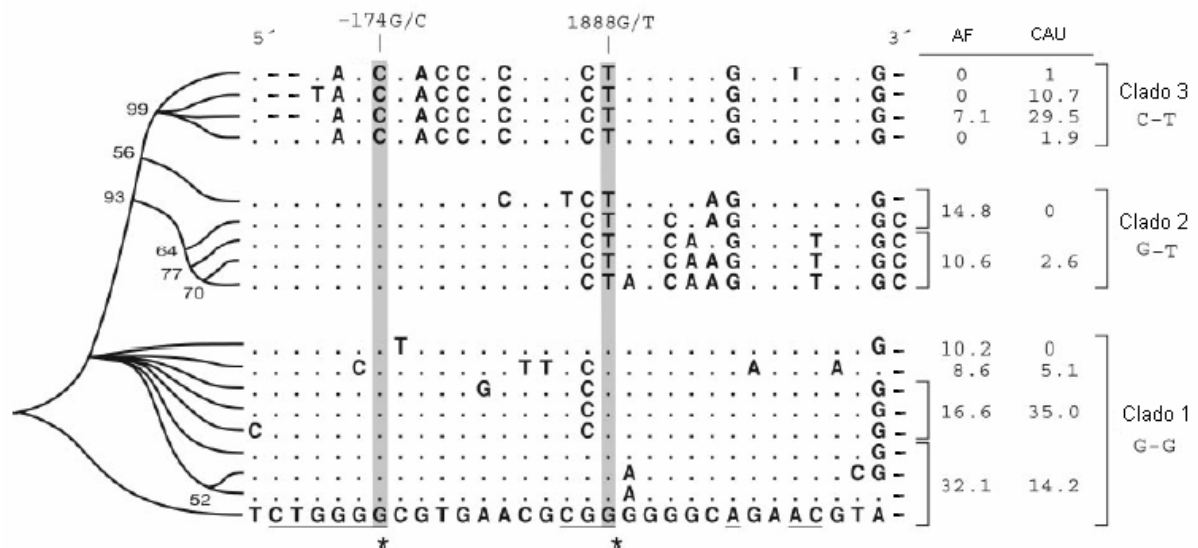
O gene desta citocina está localizado no cromossomo 7, região p15-p21, possui aproximadamente 5 Kb, quatro íntrons e cinco éxons. A região flanqueadora 5' do gene possui controle bastante complexo, indicando sua importância; corroborando este fato, há cerca de 80% de identidade do promotor entre humanos e murídeos (KELLER et al., 1996).

São conhecidos oito nucleotídeos polimórficos na região promotora do *IL6*: -1587 (T>C), -1363 (G>T), -634 (G>C), -622 (G>A), -597 (G>A), -572 (G>C), -174 (G>C) (OLOMOLAIYE<sup>1</sup> apud PEREIRA, 2004 e MÄLARSTIG; WALLENTIN; SIEGBAHN, 2007) sendo que os SNPs -597 e -174 se encontram em forte desequilíbrio de ligação (JORDANIDES et al., 2000; BRULL et al., 2001; CHUNG et al., 2003; RIVERA-CHAVEZ, 2003; HAMID et al.; 2005; QI et al., 2006, MÄLARSTIG; WALLENTIN; SIEGBAHN, 2007 e VELEZ et al., 2007). O SNP 614 (C>T) também se encontra em desequilíbrio de ligação com o -174 (MÄLARSTIG; WALLENTIN; SIEGBAHN, 2007). Entre as posições -392 e -373 há um segmento rico em adenina e timina cujo polimorfismo é referido como -373 A<sub>n</sub>T<sub>n</sub>' (GenBank, número de acesso AF372214). Dentre estes, o polimorfismo na posição -174 é o mais estudado (OLOMOLAIYE<sup>1</sup> apud PEREIRA, 2004).



As relações filogenéticas entre os haplótipos formados por 31 SNPs do *IL6* (Figura 1), foram estabelecidas após o seqüenciamento de uma amostra de norte-americanos (composta por 24 afro-descendentes e 23 europeus) por LIU et al. (2006).

FIGURA 1 - RELAÇÕES FILOGENÉTICAS DOS HAPLÓTIPOS DO GENE *IL6*



- base nitrogenada igual à da seqüência ancestral (linha inferior);
- deleções;
- N polimorfismo escolhidos para realizar a análise;
- \* SNPs marcadores dos cladros;

AF Frequências (%) haplotípicas de norte-americanos afro-descendentes (n=24);

CAU Frequências (%) haplotípicas de norte-americanos euro-descendentes (n=23).

Os SNPs listados na linha inferior são, a partir da esquerda (5' → 3'): rs2069824, rs2069825, rs2069827, rs1800797, rs1800796 (-597G>A), rs1800795 (-572G>C), rs2069830 (-174G>C), rs2069832, rs2069833, rs1474348, rs2069838, rs1474347, rs1524107, rs2066992, rs2069833, rs2069840, rs1554606, rs2069841, rs2069842, rs1548216, rs2069843, rs2069844, rs2069845, rs2069847, IL6#5602, rs2069860, rs2069849, rs2069852, rs2069855, IL6#7592 e IL6#7659. Os números do IL6 são do Programs for Genomic Applications annotated sequence.

FONTE: LIU et al., 2006.

Em outros estudos do *IL6* podem ser observados mais haplótipos formados por estes mesmos SNPs, porém nenhum destes trabalhos abrange tantos polimorfismos quanto LIU et al. (2006) (JORDANIDES et al., 2000; OTA et al., 2001; VILLUENDAS et al., 2002; TERRY et al., 2000; CHUNG et al., 2003; PARK et al., 2003; RIVERA-CHAVEZ et al., 2003; KOMATSU et al., 2004; CHANG et al., 2005; HAMID et al., 2005; NOPONEN-HIETALA et al., 2005; TRAJKOV et al., 2005;

BROWN et al., 2006; QI et al., 2006; SARUHAN-DIRESKENELI et al., 2006; COURTIN et al., 2007; KAUR et al., 2007; VELEZ et al., 2007). Nestes estudos os SNPs mais frequentemente abordados são -597 (G>A), -572 (G>C) e -174 (G>C); o Quadro 1 apresenta as frequências dos haplótipos por eles formados, sendo possível notar a existência de variação entre as populações mundiais, bem como entre os grupos de pacientes e controles. (ver tópico 2.2.1.2).

QUADRO 1 - FREQUÊNCIAS HAPLOTÍPICAS DA REGIÃO PROMOTORA DO *IL6* EM DIFERENTES AMOSTRAS POPULACIONAIS

AMOSTRA POPULACIONAL	Pacientes/Controles (n)	HAPLÓTIPOS (-597, -572, -174)							
		ACC	ACG	AGC	AGG	GCC	GCG	GGC	GGG
Crianças Jamaicanas <sup>1</sup>	Infecção por HTLV-1(20)	-	0,033	-	-	-	0,200	-	0,767
	Controles (112)	-	0,049	-	-	-	0,061	-	0,890
Norte-Americanos <sup>2</sup>	(49)	-	-	0,276 <sup>(1)</sup>	-	-	0,163 <sup>(1)</sup>	-	0,561 <sup>(1)</sup>
Norte-Americanos Caucasóides <sup>3</sup>	Prematuros (149)	...	...	0,30	...	...	0,07	...	0,56
	Gravidez completa (347)	...	...	0,31	...	...	0,06	...	0,60
Norte-Americanos Afro-decendentes <sup>3</sup>	Prematuros (76)	...	...	0,07	...	...	0,07	...	0,83
	Gravidez completa (321)	...	...	0,11	...	...	0,06	...	0,78
Japoneses <sup>4</sup>	Periodontite Crônica (112)	-	-	-	-	-	0,795 <sup>(1)</sup>	-	0,205 <sup>(1)</sup>
	Controles (77)	-	-	-	-	-	0,740 <sup>(1)</sup>	-	0,260 <sup>(1)</sup>
Coreanos <sup>5</sup>	1086	0,002	-	-	-	-	0,259	-	0,739
Dinamarqueses Caucasóides <sup>6</sup>	Diabetes Tipo 2 (1313)	-	-	0,464	-	-	0,050	0,009	0,477
	Glicose-tolerantes (4181)	-	-	0,463	-	-	0,042	0,013	0,486
Finlandeses <sup>7</sup>	Controles (179)	-	-	0,544	X	-	0,044 <sup>(1)</sup>	x	0,406
Ingleses <sup>8</sup>	(182)	-	-	0,404	0,003	0,005	0,052	-	0,536
Escoceses <sup>9</sup>	(73)	-	-	0,432	-	-	0,041	0,014	0,514
Espanhóis Caucasóides <sup>10</sup>	Hiperandrogenia (85)	-	-	0,318	-	x	x	x	0,559
	Controles (25)	-	-	0,580	-	x	x	x	0,320

FONTE: <sup>1</sup>BROWN et al., 2006; <sup>2</sup>RIVERA-CHAVEZ et al., 2003; <sup>3</sup>VELEZ et al., 2007; <sup>4</sup>KOMATSU et al., 2004; <sup>5</sup>CHUNG et al., 2003; <sup>6</sup>HAMID et al., 2005; <sup>7</sup>NOPONEN-HIETALA et al., 2005; <sup>8</sup>TERRY et al., 2000; <sup>9</sup>JORDANIDES et al., 2000; <sup>10</sup>VILLUENDAS et al., 2002.

NOTA: <sup>(1)</sup> dado inferido pela autora;  
 - dado numérico igual a zero não resultante de arredondamento numérico;  
 ... dado não disponível na referência;  
 x haplótipo presente na população, porém dado não especificado na referência.

### 2.2.1 Polimorfismo do Gene *IL6*, Posição -174

O alelo -174C é provavelmente o mais recente; em primatas (três orangotangos, três chimpanzés e três gorilas) encontrou-se apenas o alelo -174G (FISHMAN et al., 1998). A influência destes polimorfismos na quantidade de citocina circulante, não está clara, havendo divergência de resultados. (FISHMAN et al., 1998; TERRY et al., 2000; BRULL et al., 2001 e RAVAGLIA et al., 2005); estudos após cirurgia de enxerto de desvio de artéria coronária sugerem que, apesar dos indivíduos de ambos os genótipos atingirem picos equivalentes de IL-6, o tempo transcorrido até atingi-lo é maior nos pacientes com genótipo -174G/G (BRULL et al, 2001). Possivelmente existe um repressor alelo-específico ao -174C entre as regiões -550 e -211 ou +13 e +61 (TERRY et al., 2000).

Segundo TERRY et al. (2000) a expressão deste gene é influenciada pelo conjunto das variações dos SNPs (isto é, os haplótipos), não pelos alelos de SNPs individuais. Os haplótipos de menor expressão *in vitro* que contêm o alelo -174G ocorrem em aproximadamente 5% da população, conseqüentemente, estudos que consideram apenas o polimorfismo -174G>C, associariam o alelo -174C à menor produtividade.

#### 2.2.1.1 Patologias relacionadas ao SNP *IL6* -174 G>C

A interleucina 6 induz mudanças fisiológicas favorecendo um estado catabólico, conseqüentemente os indivíduos que possuem o alelo -174G são propensos a níveis menores de colesterol HDL2 e maiores níveis de ácidos-graxos livres no plasma e triglicerídios VLDL (lipoproteína de densidade baixa) totais (FERNÁNDEZ-REAL et al.; 2000). Considerando-se que os humanos modernos permanecem geneticamente adaptados ao estilo de vida pré-agricultura, caçador-colhedor, FERNÁNDEZ-REAL e RICART (1999) sugerem que fenótipos relacionados à pré-disposição à inflamação, bem como a resistência à insulina, teriam sido selecionados positivamente por serem benéficos em um ambiente em que havia pouca disponibilidade de gorduras saturadas, predominância de fibras e proteínas, bem como períodos de escassez e mais atividade física, com expectativa de vida de 35 anos – seriam benéficos às respostas a doenças e à fome, provendo

substrato ao metabolismo cerebral. Atualmente, o hábito sedentário e a dieta rica em carboidratos, gorduras saturadas e pobres em fibras, estas propriedades podem acarretar problemas de saúde.

O alelo *-174G* foi relacionado à incidência de derrame isquêmico em pacientes italianos (POLA et al., 2003; FLEX et al., 2004) principalmente quando associado ao genótipo EE do ICAM-1 (gene da molécula de adesão intracelular-1) (POLA et al., 2003). Apesar de não influenciar a ocorrência de lupus eritematoso sistêmico, este alelo predispõe a certas manifestações clínicas e imunológicas (lesões discoidais e anticorpos anti-histona) (SCHOTTE et al., 2001). O mesmo é observado em relação à Síndrome primária de Sjögren, na qual a variação alélica influencia apenas a ocorrência de manifestações extraglandulares da síndrome, para as quais a presença do alelo *-174G* acarreta maior risco (HULKONEN et al., 2001).

O genótipo *-174C/C* está associado com menor reabsorção óssea (CHUNG et al., 2003) e possivelmente à ocorrência de Diabetes tipo 1 em mulheres, devido à atuação do estrogênio (GILLESPIE et al., 2005). O alelo *-174C* foi relacionado à susceptibilidade ao câncer colo-retal, em espanhóis (LANDI et al., 2003), câncer cervical em brasileiras (SOUZA et al., 2006) e ao câncer de mama em alemãs e austríacas, neste caso, com maior risco para as portadoras de genótipo homocigoto do que de heterocigoto (HEFLER et al. 2003). Sua presença também foi relacionada ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares em suecos (LIU et al., 2006) e abortos espontâneos recorrentes em uma população de mulheres brasileiras caucasóides (LINSINGEN et al, 2005), porém DAHER et al. (2003). e PRIGOSHIN et al. (2004) não encontraram tal associação em populações caucasóides brasileira e argentina respectivamente.

O genótipo *-174 C/C* tem potencialmente efeito protetor à patogenicidade da artrite crônica juvenil sistêmica (FISHMAN et al. 1998), o alelo *-174C* ao desenvolvimento de Pênfigo Foliáceo Endêmico (PEREIRA, 2004; PEREIRA et al., 2004) e do Linfoma de Hodgking antes dos 50 anos de idade (COZEN et al., 2004).

Há divergência quanto à relação entre o polimorfismo e a ocorrência de Diabetes Mellitus tipo 2 (DMT2), relacionando-se por vezes um alelo ou o outro à susceptibilidade à doença (VOZAROVA et al., 2003; MÖHLIG et al., 2004; HAMID et al., 2005; HUTH et al., 2006 e QI et al., 2006). Baseando-se em resultados próprios

e meta-análise de outros estudos, QI et al. (2006) sugeriram que não haveria associação de tal variação polimórfica e a ocorrência da DMT2.

Os trabalhos realizados com pacientes com periodontite, também apresentam resultados divergentes (TREVILATTO et al., 2003; BABEL et al., 2006 e SETTIN et al., 2006). Em japoneses, não se encontrou polimorfismo para os SNPs -597 e -174, mas o alelo -373 A<sub>9</sub>T<sub>11</sub> foi relacionado com menor susceptibilidade à periodontite e menores níveis séricos de IL-6 (KOMATSU et al., 2005).

#### 2.2.1.2 Patologias relacionadas aos haplótipos da região promotora do gene *IL6*

Os polimorfismos das posições -597 e -174 foram relacionados à hiperandrogenia e ovário policístico. Indivíduos homocigotos para os alelos -597A e -174C estavam protegidos contra a ocorrência de excesso de androgênio, enquanto os alelos -597G e -174G foram associados a maiores níveis séricos de IL-6 e 17-hidroxiprogesterona, além de hiperatividade do eixo adrenal (VILLUENDAS et al., 2002). BROWN et al. (2006), obtiveram o haplótipo GGG (posições -597, -572 e -174 respectivamente) em maior frequência em crianças não infectadas por Vírus Linfotrófico T Humano Tipo I (HTLV-1) e o haplótipo GCG associado à ocorrência da infecção. Em finlandeses a maior presença do haplótipo GGGA (respectivamente as posições -597, -572, -174 e 15 - exon 5) bem como dos alelos 15A (exon5) e 15G, posições -597 e -174, foi significativamente maior em pacientes de doença de disco intervertebral (NOPONEN-HIETALA et al., 2005).

O alelo -597A, que está em forte desequilíbrio de ligação com o -174C (JORDANIDES et al., 2000; BRULL et al., 2001; CHUNG et al., 2003; RIVERA-CHAVEZ, 2003; HAMID et al., 2005; QI et al., 2006, MÄLARSTIG; WALLENTIN; SIEGBAHN, 2007 e VELEZ et al., 2007), foi relacionado à susceptibilidade de infecção da cavidade amniótica e consequente aumento de concentração da IL-6 em norte-americanos caucasóides, acarretando em nascimentos prematuros. Esta relação não foi encontrada para norte-americanos afro-descendentes nem para os outros quatro SNPs do *IL6*, dentre eles -572 e -174 (VELEZ et al., 2007).

MÄLARSTIG, WALLENTIN e SIEGBAHN (2007) analisaram oito SNPs do *IL6* (-1587 T>C, -1363 G>T, -597 G>A, -572 G>C, 614 C>T, 4835 G>A e 5908 G>A) e encontraram apenas associação do genótipo -572G/C com níveis plasmáticos de

IL-6 mais elevados (não haviam indivíduos -572C/C) em pacientes de Síndrome Aguda Coronária, não havendo a mesma relação para os demais SNPs ou nos indivíduos saudáveis. Apesar do alelo -572C deste SNP ser mais frequente na população japonesa ( $q = 0,740$ ) KOMATSU et al. (2005) não observaram sua influência nos níveis séricos de IL-6, mas eles sugerem a possibilidade do alelo -373  $A_{10}T_{10}$ , com o qual se estava em desequilíbrio de ligação, estar interferindo. Por sua vez, RIVERA-CHAVEZ et al. (2003) encontraram para a população norte-americana associação apenas dos alelos -597G e -174G (na amostra em questão, só foram encontrados haplótipos GG ou AC para estas posições) com a maior produção de IL-6, e sugeriram que neste estudo as variações do -373  $A_nT_n$  e -572 provavelmente não interferiram na expressão do *IL6*.

#### 2.2.1.3 Polimorfismos em populações

A distribuição dos alelos da posição -174 é heterogênea (Tabela 1); populações de origem oriental, africana, ameríndia, aborígine e mexicana têm uma frequência alta do genótipo -174G/G e geralmente não se encontram indivíduos homocigotos -174C/C destas etnias. O alelo -174C é mais comum em populações europeias, como Itália, Finlândia, Escócia, Alemanha e Áustria, (PARRA-ROJAS et al., 2006).

TABELA 1 - FREQUÊNCIAS GENOTÍPICAS E ALÉLICA PARA O SNP -174 DO GENE *IL6* EM DIFERENTES POPULAÇÕES MUNDIAIS

							Continua
COMPOSIÇÃO	POPULAÇÃO	N	G/G	G/C	C/C	q	
Afro-decendentes	Jamaicanos <sup>1</sup>	112	112	-	-	-	
Ameríndios	Pima <sup>2</sup>	114	114	-	-	-	
	Japoneses <sup>3</sup>	189	189	-	-	-	
	Chineses <sup>4</sup>	83	83	-	-	-	
	Coreanos <sup>5</sup>	1107	1102	5	-	0,002	
...	Chineses <sup>6</sup>	259	258	1	-	0,002	
Sul-Africanos	Zulu <sup>4</sup>	86	85	1	-	0,006	
	Coreanos <sup>7</sup>	123	119	4	-	0,016	
	Bengalis <sup>8</sup>	32	30	2	-	0,031	
Orientais	Norte Americanos <sup>9</sup>	29	27	2	-	0,034 <sup>(1)</sup>	
Afro-decendentes	Caribenhos <sup>10</sup>	101	92	9	-	0,045 <sup>(1)</sup>	
	Mexicanos <sup>4</sup>	40	36	3	1	0,062	
Aborígenes	Australianos <sup>8</sup>	107	94 <sup>(1)</sup>	12 <sup>(1)</sup>	1 <sup>(1)</sup>	0,065 <sup>(1)</sup>	
Afro-decendentes	Norte-Americanos <sup>9</sup>	56	45	10	1	0,107 <sup>(1)</sup>	
"Hispanicos"	Mexicanos <sup>11</sup>	100	77	23	-	0,115	
74% Árabes	Omanis <sup>4</sup>	80	61	18	1	0,125	
Afro-decendentes	Norte-Americanas <sup>12</sup>	321	...	...	...	0,13	
Indianos	Gujarati <sup>13</sup>	115	85	28	2	0,139 <sup>(1)</sup>	
Ameríndios mestiços	Pima <sup>2</sup>	31	22	9	-	0,145 <sup>(1)</sup>	
Mulatos	Brasileiros <sup>14</sup>	61	41 <sup>(1)</sup>	18 <sup>(1)</sup>	2 <sup>(1)</sup>	0,180 <sup>(1)</sup>	
	Brasileiros <sup>15</sup>	64	40	24	0	0,188 <sup>(1)</sup>	
Hispanicos	Norte-Americanos <sup>10</sup>	24	18	3	3	0,188 <sup>(1)</sup>	
...	Indianos <sup>16</sup>	121	82	31	8	0,194 <sup>(1)</sup>	
	Brasileiras <sup>17 (3)</sup>	253	148	102	3	0,213 <sup>(1)</sup>	
	Turcos <sup>18 (2)</sup>	169	109	46	14	0,219	
...	Turcos <sup>19</sup>	108	57	45	6	0,264	
84% Caucasóides	Brasileiros <sup>20</sup>	420	232	153	35	0,265	
	Italianos e Franceses <sup>21</sup>	317	169	120	28	0,278 <sup>(1)</sup>	
	Colombianos <sup>22 (2)</sup>	325	...	...	...	0,282 <sup>(1)</sup>	
	Macedonio <sup>23</sup>	125	63	51	11	0,292	
Caucasóides	Argentinas <sup>24 (2)</sup>	92		84	8	0,295 <sup>(1)</sup>	
Caucasóides	Brasileiros <sup>14</sup>	119	59	45	15	0,315	
	Espanhóis <sup>25</sup>	311	145	133	33	0,320 <sup>(1)</sup>	
Russos	"Basquíria" <sup>26</sup>	345	153	155	37	0,332	
Caucasóides	Norte-Americanas <sup>12</sup>	347	...	...	...	0,34	
	Austríacas <sup>27</sup>	94	43	35	16	0,356 <sup>(1)</sup>	
	Austríacos <sup>28</sup>	214	76	108	30	0,393	
Caucasóides	Ingleses <sup>9</sup>	383	144	169	70	0,403	
Caucasóides	Australianas <sup>29</sup>	112	36	61	15	0,406	
	Escoceses <sup>30</sup>	1109	375	549	185	0,414 <sup>(1)</sup>	
Caucasóides	Alemães <sup>31</sup>	91	27	52	12	0,418 <sup>(1)</sup>	
	Ingleses <sup>32</sup>	2560	827	1263	470	0,430	
Caucasóides	Catalãos <sup>2</sup>	118	34	65	19	0,436 <sup>(1)</sup>	

TABELA 1 - FREQUÊNCIAS GENOTÍPICAS E ALÉLICA PARA O SNP -174 DO GENE *IL6* EM DIFERENTES POPULAÇÕES MUNDIAIS

						conclusão
COMPOSIÇÃO	POPULAÇÃO	N	G/G	G/C	C/C	q
	Noruegueses <sup>33</sup>	175	61 <sup>(1)</sup>	75 <sup>(1)</sup>	39 <sup>(1)</sup>	0,437 <sup>(1)</sup>
	Escoceses <sup>34</sup>	73	...	...	...	0,445 <sup>(1)</sup>
	Poloneses <sup>35 (2)</sup>	188	59	87	42	0,455 <sup>(1)</sup>
Caucasóides	Irlandeses do Norte <sup>4</sup>	100	30	48	22	0,460
Caucasóides	Alemães <sup>36</sup>	158	47	76	35	0,462 <sup>(1)</sup>
	Inglêses e Suecos <sup>21</sup>	244	71	120	53	0,463 <sup>(1)</sup>
	Alemães <sup>37</sup>	376	97	208	71	0,465
Caucasóides	Dinamarqueses <sup>38</sup>	4401	1246	2133	1022	0,475 <sup>(1)</sup>
	Egípcios <sup>39 (3)</sup>	98	5	87	6	0,505
Caucasóides	Italianos <sup>40</sup>	223	56	99	68	0,527
Caucasóides	Finlandeses <sup>41, 42</sup>	400	81	201	118	0,546 <sup>(1)</sup>
Caucasóides	Finlandeses <sup>43</sup>	337	101	167	69	0,547 <sup>(1)</sup>
	Alemães <sup>44</sup>	214	44	104	66	0,551

FONTE:<sup>1</sup>BROWN et al., 2006; <sup>2</sup>VOZAROVA et al., 2003; <sup>3</sup>KOMATSU et al., 2005; <sup>4</sup>MEENAGH et al., 2002; <sup>5</sup>CHUNG et al., 2003; <sup>6</sup>ZHAI, R.; LIU, G.; YANG, C. et al., The G to C polymorphism at -174 of the interleukin-6 gene is rare in Southern Chinese population. **Pharmacogenetics**, v. 11, p. 699-701, 2001. in PARRA-ROJAS et al., 2006; <sup>7</sup>CHANG et al., 2005; <sup>8</sup>MOSCOVIS et al., 2006; <sup>9</sup>HOFFMANN et al., 2002; <sup>10</sup>FISHMAN et al., 1998; <sup>11</sup>PARRA-ROJAS et al., 2006; <sup>12</sup>VELEZ et al., 2007; <sup>13</sup>JENG et al., 2005; <sup>14</sup>PEREIRA et al., 2004; <sup>15</sup>GUIMARÃES et al., 2007; <sup>16</sup>KAHUR et al., 2007; <sup>17</sup>SOUZA et al., 2006; <sup>18</sup>KARAHAN et al., 2005; <sup>19</sup>SARUHAN-DIREKENELI et al., 2006; <sup>20</sup>PIERONI et al., no prelo; <sup>21</sup>KELBERMAN et al., 2004; <sup>22</sup>HENAO et al., 2006; <sup>23</sup>TRAJKOV et al., 2005; <sup>24</sup>PRIGOSHIN et al., 2004; <sup>25</sup>LANDI et al., 2003; <sup>26</sup>DANIKO et al., 2007; <sup>27</sup>WALCH et al., 2004; <sup>28</sup>GREISENEGGER, E.; ENDLER, G.; HAERING, D. et al. The (-174)G/C polymorphism in the interleukin-6 gene is associated with severity of acute cerebrovascular events. **Thrombosis Research**, v. 110, p. 181-186, 1997. in PARRA-ROJAS et al., 2006; <sup>29</sup>ANNELLS et al., 2005; <sup>30</sup>BASSO et al., 2002; <sup>31</sup>SPRIEWALD et al., 2005; <sup>32</sup>HUMPHRIES et al., 2001; <sup>33</sup>OPDAL; ROGNUM., 2007; <sup>34</sup>JORDANIDES et al., 2000; <sup>35</sup>DROZDZIK et al., 2005; <sup>36</sup>SCHOTTE et al., 2001; <sup>37</sup>MÖHLIG et al., 2004; <sup>38</sup>HAMID et al., 2005; <sup>39</sup>SETTIN et al., 2006; <sup>40</sup>FLEX et al., 2004; <sup>41</sup>WANG et al., 2001; <sup>42</sup>HULKKONEN et al., 2002; <sup>43</sup>EKLUND et al., 2003; <sup>44</sup>REICH et al.; 2003.

NOTA: q frequência relativa do alelo -174C;

- dado numérico igual a zero não resultante de arredondamento numérico;

... dado não especificado na referência

(<sup>1</sup>) Dados inferidos pela autora com base na referência.

(<sup>2</sup>) Informações de estudo paciente/controle agrupadas, permitida pela variação não significativa.

(<sup>3</sup>) Dados não se encontram em equilíbrio de Hardy-Weinberg.

## 2.3 POPULAÇÃO PARANAENSE

Até a independência do Brasil, a população paranaense havia sido composta basicamente pelos ameríndios (em sua maioria Guarani e Kaingang), portugueses e em menor proporção por africanos (principalmente angolanos e banto-congoleses) e espanhóis. Após este evento, europeus, principalmente



alemães, franceses e de outras populações de mesmos idiomas, foram colonizando o Paraná e outras localidades do país (MICHAELE, 1969).

Foi na segunda metade do século XIX que houve um aumento da imigração, cujos pontos altos foram antes e depois da 1ª Guerra Mundial. Neste período vieram os povos eslavos, principalmente poloneses e ucranianos, depois destes, os italianos, povos de etnia árabe (sírios, libaneses, egípcios entre outros), holandeses e japoneses (MICHAELE, 1969).

A distribuição da população residente no Paraná, por cor, de acordo com o Censo Demográfico 2000, é de 77,2% branca, 2,8% preta, 18,3% parda, 0,9% amarela e 0,3% indígena; na capital Curitiba, 84,4%, 2,5%, 11,3%, 1,1% e 0,3%, respectivamente – exclusive a população com declaração de cor ignorada (IBGE, 2004b). O estado possui um total de 9.564.643 habitantes e na capital 1.587.315 residentes (IBGE, 2004a).

PROBST et al. (2000) estimaram a miscigenação de caucasóides e mulatos paranaenses (tabela 2) através dos polimorfismos dos genes *HLA-A*, *HLA-B*, *HLA-C*, *HLA-DR* e *HLA-DQ* clássicos, cuja frequência alélica e haplótipos são bastante distintos entre as populações, permitindo a análise das origens e miscigenação das populações.

TABELA 2 - ANCESTRALIDADE DAS POPULAÇÕES CAUCASÓIDE E MULATA PARANAENSES

POPULAÇÃO ANCESTRAL	CONTRIBUIÇÃO RELATIVA EM	
	Caucasóides	Mulatos
Europeus	0,8057 ± 0,069	0,4177 ± 0,065
Africanos Sub-Saarianos	0,1247 ± 0,064	0,4950 ± 0,060
Ameríndios	0,0695 ± 0,010	0,0873 ± 0,011

FONTE: PROBST et al., 2000.

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 ANÁLISE DE AMOSTRA DA POPULAÇÃO CURITIBANA

Utilizou-se amostras do conjunto de DNAs denominado Painel do Laboratório de Genética Molecular Humana, obtidos entre 1994 e 2006, composto por aproximadamente 200 indivíduos voluntários residentes em Curitiba. O DNA foi extraído de sangue periférico, pelo método fenol-clorofórmio, adaptado do protocolo do XIII Workshop Internacional de Histocompatibilidade (HURLEY et al., 1998). Utilizou-se o método PCR-RFLP (Reação em Cadeia da Polimerase – Polimorfismo de Comprimento dos Fragmentos de Restrição) para a tipagem alélica.

Neste estudo inicial, visando posterior tipagem de toda a amostra populacional da região metropolitana de Curitiba, cujo DNA encontra-se estocado no Laboratório de Genética Molecular Humana, foram analisados 31 indivíduos não relacionados, sendo oito membros do laboratório e 23 selecionados ao acaso (25 caucásios e 6 amostras de outras etnias). Foram selecionadas outros seis indivíduos como controles, cujo genótipo já era conhecido (PEREIRA, 2004) pois fazem parte do conjunto de controles de estudos de Pênfigo Foliáceo Endêmico.

##### 3.1.1 Reação em Cadeia da Polimerase – Polimorfismo de Comprimento dos Fragmentos de Restrição (PCR-RFLP)

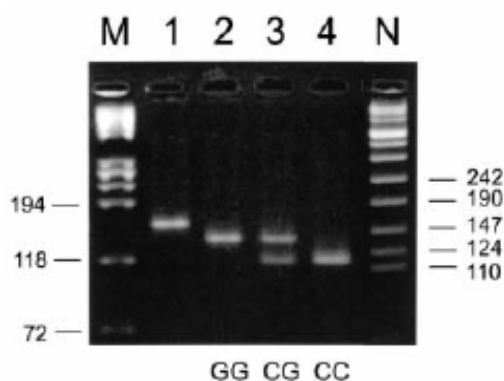
A PCR foi feita com volume de 10 µL por amostra, contendo 0,35 U de Taq DNA Polymerase (Invitrogen), 1 µL de tampão sulfato (67mM Tris-HCL pH 9,0, 160 mM (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>, 0,1% Twin 20), 0,15 mM de desóxi-ribonucleotídeo (dNTP), 1,5 mM de MgCl<sub>2</sub>, 0,8 µM de cada oligonucleotídeo iniciador, 4 ng de DNA e água bidestilada e deionizada completando o volume. As soluções foram submetidas a 40 ciclos de desnaturação (94°C, 30s), hibridização (47°C por 30s) e extensão (72°C, 60s), adaptado de TSENG et al., 2002 e PEREIRA, 2004.

Os oligonucleotídeos iniciadores utilizados foram IL6BsII (5' ttg tca aga cat gcc aaa gtg cGg ag 3') da seqüência AF048692 do GenBank e IL6rBsII (5' gtg caa tgt gac gtc cCt tag cat 3'), sendo que, com objetivo de criar um sítio monomórfico

para verificar a restrição, foram substituídas bases (em letras maiúsculas) nos oligonucleotídeos iniciadores, conforme TSENG et al., 2002 e PEREIRA, 2004.

Posteriormente, 6 µL da solução do DNA amplificado foi incubado com 1,6 unidades de endonuclease de restrição *BsiI* (New England BioLabs Inc.) em tampão NEB 3 (100 mM NaCl, 50 mM Tris-HCl, 10 mM MgCl<sub>2</sub>, 1 mM DTT, pH 7,9) a 55°C por 2h15. Estes produtos de digestão foram misturados com 1,2 µL de corante e submetidos à eletroforese em gel de agarose ultrapurificada a 4% a 100 volts por 30min seguidos por 45min a 75 volts (ver figura 1). O gel foi revelado em brometo de etídeo 0,7 mg/ml e visualizado por transiluminador de luz ultra-violeta.

FIGURA 2 - IDENTIFICAÇÃO DOS GENÓTIPOS DE *IL6*-174 ATRAVÉS DE PCR-RFLP COM *BsiI*



**M e N** - marcadores de peso molecular

**1** - produto amplificado não digerido

**2- 4** - fragmentos de restrição, após digestão com *BsiI*

FONTE: TSENG et al., 2002 (adaptado)

NOTA: após a digestão formam-se fragmentos de restrição com 136 e 20 pb para o alelo -174G, 117, 20 e 19 para o alelo -174C, sendo visualizados em gel apenas os maiores.

### 3.1.2 Análise Estatística

Após a leitura dos géis, a contagem dos genótipos foi realizada através do Microsoft Office Excel 2003. A análise das frequências alélica e genotípica, bem como a verificação de equilíbrio de Hardy-Weinberg foi realizada com auxílio do programa Arlequin v. 2.000 (SCHNEIDER; ROESSLI; ESCOFFIER, 2000). Analisou-se a amostra total e também os subgrupos caucasóide e não caucasóide. Esse último não foi subdividido devido ao diminuto tamanho amostral.

As frequências alélicas obtidas foram comparados com outras amostras da população brasileira através do algoritmo metrópolis, utilizando-se o programa RxC (MILLER, 1997). O limite de significância adotado foi  $P=0,05$ .

### 3.2 ANÁLISE DA POPULAÇÃO MUNDIAL

Na revisão da literatura buscou-se abranger o maior número de populações possível, preferencialmente em equilíbrio de Hardy-Weinberg e com descrição da amostra. Visando satisfazer estes critérios, foram incluídas amostras de estudos caso-controle, cujos controles foram descritos como indivíduos sem doenças crônicas, provenientes de amostragem aleatória, ou escolhidos apenas por características relacionadas ao sexo, hábitos e idade. Em alguns estudos nos quais a variação entre os grupos de pacientes e controles não foi significativa, uniu-se as frequências absolutas de ambos os grupos, desde que a variação não significativa não fosse um efeito do tamanho amostral – este procedimento está indicado ao lado dos dados.

A falta de coerência de dados foi utilizada como critério de exclusão, sendo verificado a correspondência das frequências alélicas e genotípicas com os valores relativos e/ou absolutos apresentados nos artigos.

As informações de composição étnica das populações, quando disponíveis, também foram acrescentadas ao levantamento, visando maior detalhamento.

Posteriormente, os dados foram refinados, selecionando-se duas amostras para cada subgrupo étnico dos países, priorizando-se maior tamanho amostral e estudos populacionais. As frequências alélicas, quando não informadas no estudo, foram calculadas através do algoritmo  $q=(GC+2CC)/2N$  ou  $q=\sqrt{(CC/N)}$  se a amostra estivesse em Equilíbrio de Hardy-Weinberg e não houvesse outra informação mais confiável. Frequências genotípicas apresentadas na forma de porcentagem foram convertidas em frequências absolutas.

O cálculo das médias e variância das frequências alélicas dos continentes foi feito manualmente.

#### 4.2.1 Análise Haplotípica

Realizou-se o levantamento das frequências haplotípicas mundiais encontradas para os SNPs -597G>A, -572G>C e -174 G>C, pois dentre os estudos de haplótipos do *IL6*, a maioria está voltada a estes três SNPs.

A análise da distribuição mundial destes haplótipos foi realizada com base em dez estudos cuja frequência haplotípica estava especificada. Estas informações foram comparadas com a filogenia do *IL6* apresentada por LIU et al. (2006) (Figura 1) que possui apenas três dos oito haplótipos encontrados mundialmente. Assim foi necessário realizar também o levantamento de frequências alélicas dos SNPs -597 e -572 para permitir inferências sobre a origem dos outros cinco haplótipos.

## 4 RESULTADOS

### 4.1 POPULAÇÕES BRASILEIRAS

O conjunto dos genótipos dos 31 indivíduos tipados neste estudo estavam em equilíbrio de Hardy-Weinberg ( $P=0,551, \pm 0,00049$ ), bem como na amostra caucasóide ( $P=0,553, \pm 0,00049$ ) e não-caucasóide ( $P=1, \pm 0,000$ ).

Analisando-se as frequências alélicas deste estudo e de outras amostras da população brasileira (Tabela 3), não há diferença significativa entre todas elas ( $P=0,130; \pm 0,015957$ ), mas comparando-se duas a duas (Quadro 2), a amostra caucasóide 7 difere significativamente da de mulatos (2) e da amostra de Minas Gerais (3). Nenhuma das amostras deste estudo diferiu das demais.

TABELA 3 - FREQUÊNCIAS GENOTÍPICAS E ALÉLICA DA POSIÇÃO -174(G>C) EM AMOSTRAS DA POPULAÇÃO BRASILEIRA

Nº	Composição	Estado	N	G/G	G/C	C/C	q
1	Não-caucasóides	PR <sup>1</sup>	6	5	1	-	0,083
2	Mulatos	MS e PR <sup>2,3</sup>	61	41 <sup>(1)</sup>	18 <sup>(1)</sup>	2 <sup>(1)</sup>	0,180
3	...	MG <sup>4</sup>	64	40	24	0	0,188
4	81% Caucasóide	PR <sup>1</sup>	31	21	8	2	0,194
5	Caucasóides	PR <sup>1</sup>	25	16	7	2	0,220
6	84% Caucasóides	SP <sup>5(2)</sup>	840	449	325	66	0,272
7	Caucasóide	MS e PR <sup>2</sup>	119	59 <sup>(1)</sup>	45 <sup>(1)</sup>	15 <sup>(1)</sup>	0,315

FONTE: <sup>1</sup> este estudo; <sup>2</sup> PEREIRA, 2004; <sup>3</sup> PEREIRA et al., 2004; <sup>4</sup> GUIMARÃES et al. 2006; <sup>5</sup> PIERONI et al., no prelo.

(<sup>1</sup>) Dados inferidos pela autora com base na referência.

(<sup>2</sup>) Informações de estudo paciente/controle agrupadas, permitida pela variação não significativa.

... composição não especificada na referência.

QUADRO 2 - VALORES DE P (PROBABILIDADE) RESULTANTES DA COMPARAÇÃO DAS FREQUÊNCIAS ALÉlicas DA POSIÇÃO -174(G>C) ENTRE AMOSTRAS DA POPULAÇÃO BRASILEIRA

AMOSTRA <sup>(1)</sup>	1	2	3	4	5	6
2	0,6975					
3	0,6936	1,0000				
4	0,6805	0,8421	1,0000			
5	0,6818	0,6873	0,6849	0,8198		
6	0,3266	0,0939	0,1371	0,3064	0,6430	
7	0,3145	0,0368	0,0467	0,3216	0,3960	0,3157

(<sup>1</sup>) Números referentes às populações da Tabela 3.

## 4.2 POPULAÇÕES MUNDIAIS

Houve grande variação nas frequências do alelo *-174C* entre populações, estando esse alelo presente principalmente nas populações européias (Tabela 4). Sua maior ocorrência é na Finlândia, sendo ausente em algumas amostras da população oriental, afro-decendente e ameríndia. Existe um gradiente na sua distribuição, com sua ocorrência diminuindo quanto maior a distância em relação ao centro europeu.

A amostra da população egípcia também possui o alelo *-174C* com frequência alta ( $q=0,505$ ), porém 87 dos 98 indivíduos tipados são heterozigotos, estando significativamente fora do equilíbrio de Hardy-Weinberg. Provavelmente ocorreram erros de análise dos genótipos nesta população e/ou erros na escolha da amostra. Efeito fundador e de deriva poderiam explicar a elevada frequência alélica, porém não justificam o expressivo número de heterozigotos. Em nenhum outro local foi encontrado frequências genotípicas tão destoantes do equilíbrio de Hardy-Weinberg, assim dificilmente a seleção natural atuando sobre este SNP é forte o suficiente para provocar um desequilíbrio tão grande.

Os outros polimorfismos do *IL6* são menos estudados, havendo poucos dados populacionais para os SNPs *-597G>A* e *-572G>C* (Tabela 5). Em japoneses apenas a posição *-572* é polimórfica, possuindo a frequência de *-572C* muito maior que nas demais populações. Os alelos da posição *-597* possuem uma distribuição semelhante aos da posição *-174*, as frequências do *-597A* nas populações coincidem com as do *-174C*, sendo alelos que são descritos como estando em desequilíbrio de ligação (JORDANIDES et al., 2000; BRULL et al., 2001; CHUNG et al., 2003; RIVERA-CHAVEZ, 2003; HAMID et al., 2005; QI et al., 2006, MÄLARSTIG; WALLENTIN; SIEGBAHN, 2007 e VELEZ et al., 2007).

TABELA 4 - FREQUÊNCIAS GENOTÍPICAS E ALÉLICA PARA O SNP -174 DO GENE *IL6* EM DIFERENTES POPULAÇÕES MUNDIAIS, AGRUPADAS GEOGRAFICAMENTE

Continua						
COMPOSIÇÃO	POPULAÇÃO	N	G/G	G/C	C/C	q
	Américas			$s^2 = 0,113$		0,173 <sup>(1)</sup>
Mulatos	Brasileiros <sup>1</sup>	61	41 <sup>(1)</sup>	18 <sup>(1)</sup>	2 <sup>(1)</sup>	0,180 <sup>(1)</sup>
	Brasileiros <sup>2</sup>	64	40	24	0	0,188 <sup>(1)</sup>
	Brasileiras <sup>3 (3)</sup>	253	148	102	3	0,213 <sup>(1)</sup>
Caucasóides	Brasileiros <sup>4</sup>	420	232	153	35	0,265
Caucasóides	Brasileiros <sup>1</sup>	119	59	45	15	0,315
Caucasóides	Argentinas <sup>5 (2)</sup>	92	84		8	0,295 <sup>(1)</sup>
	Colombianos <sup>6 (2)</sup>	325	...	...	...	0,282 <sup>(1)</sup>
Afro-decendentes	Jamaicanos <sup>7</sup>	112	112	-	-	-
Afro-decendentes	Caribenhos <sup>8</sup>	101	92	9	-	0,045 <sup>(1)</sup>
	Mexicanos <sup>9</sup>	40	36	3	1	0,062
“Hispânicos”	Mexicanos <sup>10</sup>	100	77	23	-	0,115
Orientais	Norte Americanos <sup>11</sup>	29	27	2	-	0,034 <sup>(1)</sup>
Afro-decendentes	Norte-Americanos <sup>11</sup>	56	45	10	1	0,107 <sup>(1)</sup>
Afro-decendentes	Norte-Americanas <sup>12</sup>	321	...	...	...	0,13
“Hispânicos”	Norte-Americanos <sup>11</sup>	24	18	3	3	0,188 <sup>(1)</sup>
Caucasóides	Norte-Americanas <sup>12</sup>	347	...	...	...	0,34
Caucasóides	Norte-Americanos <sup>11</sup>	186	75	81	30	0,380 <sup>(1)</sup>
Ameríndios mestiços	Pima <sup>13</sup>	31	22	9	-	0,145 <sup>(1)</sup>
Ameríndios	Pima <sup>13</sup>	114	114	-	-	-
	Ásia			$s^2 = 0,119$		0,110 <sup>(1)</sup>
	Japoneses <sup>14(2)</sup>	189	189	-	-	-
	Coreanos <sup>15</sup>	1107	1102	5	-	0,002
	Coreanos <sup>16</sup>	123	119	4	-	0,016
	Chineses <sup>9</sup>	83	83	-	-	-
	Chineses <sup>17</sup>	259	258	1	-	0,002
	Bengalis <sup>18</sup>	32	30	2	-	0,031
	Indianos <sup>8</sup>	115	85	28	2	0,139
	Indianos <sup>19</sup>	121	82	31	8	0,194 <sup>(1)</sup>
74% Árabes	Omanis <sup>9</sup>	80	61	18	1	0,125
	Turcos <sup>20 (2)</sup>	169	109	46	14	0,219
	Turcos <sup>21</sup>	108	57	45	6	0,264
Russos	“Basquíria” <sup>22</sup>	345	153	155	37	0,332
	Europa			$s^2 = 0,071$		0,430 <sup>(1)</sup>
	Macedonio <sup>23</sup>	125	63	51	11	0,292
	Poloneses <sup>24 (2)</sup>	188	59	87	42	0,455 <sup>(1)</sup>
Caucasóides	Alemães <sup>25</sup>	91	27	52	12	0,418 <sup>(1)</sup>
	Alemães <sup>26</sup>	214	66	104	44	0,449
Caucasóides	Alemães <sup>27</sup>	158	47	76	35	0,462 <sup>(1)</sup>
	Alemães <sup>28</sup>	376	97	208	71	0,465
	Austríacas <sup>29</sup>	94	43	35	16	0,356 <sup>(1)</sup>
	Austríacos <sup>30</sup>	214	76	108	30	0,393
Caucasóides	Dinamarqueses <sup>31</sup>	4401	1246	2133	1022	0,475 <sup>(1)</sup>



TABELA 4 - FREQUÊNCIAS GENOTÍPICAS E ALÉLICA PARA O SNP -174 DO GENE *IL6* EM DIFERENTES POPULAÇÕES MUNDIAIS, AGRUPADAS GEOGRAFICAMENTE

COMPOSIÇÃO	POPULAÇÃO	N	G/G	G/C	C/C	Conclusão
						q
Europa				$s^2 = 0,071$		0,430 <sup>(1)</sup>
	Noruegueses <sup>32</sup>	175	61 <sup>(1)</sup>	75 <sup>(1)</sup>	39 <sup>(1)</sup>	0,437 <sup>(1)</sup>
Caucasóides	Finlandeses <sup>33</sup>	337	101	167	69	0,547 <sup>(1)</sup>
Caucasóides	Finlandeses <sup>34, 35</sup>	400	81	201	118	0,546 <sup>(1)</sup>
Caucasóides	Ingleses e Suecos <sup>36</sup>	244	71	120	53	0,463 <sup>(1)</sup>
Caucasóides	Ingleses <sup>8</sup>	383	144	169	70	0,403
	Ingleses <sup>37</sup>	2560	827	1263	470	0,430
	Escoceses <sup>38</sup>	1109	375	549	185	0,414 <sup>(1)</sup>
	Escoceses <sup>39</sup>	73	...	...	...	0,445 <sup>(1)</sup>
Caucasóides	Irlandeses do Norte <sup>9</sup>	100	30	48	22	0,460
	Franceses e Italianos <sup>36</sup>	317	169	120	28	0,278 <sup>(1)</sup>
Caucasóides	Italianos <sup>40</sup>	223	56	99	68	0,527
	Espanhóis <sup>41</sup>	311	145	133	33	0,320 <sup>(1)</sup>
Caucasóides	Catalães <sup>13</sup>	118	34	65	19	0,436 <sup>(1)</sup>
Outras						
	Egípcios <sup>42 (3)</sup>	98	5	87	6	0,505
Zulu	Sul-Africanos <sup>9</sup>	86	85	1	-	0,006
Aborígenes	Australianos <sup>18</sup>	107	94 <sup>(1)</sup>	12 <sup>(1)</sup>	1 <sup>(1)</sup>	0,065
Caucasóides	Australianas <sup>43</sup>	112	36	61	15	0,406

FONTE: <sup>1</sup>PEREIRA et al., 2004; <sup>2</sup>GUIMARÃES et al., 2007; <sup>3</sup>SOUZA et al., 2006; <sup>4</sup>PIERONI et al., no prelo; <sup>5</sup>PRIGOSHIN et al., 2004; <sup>6</sup>HENAO et al., 2006; <sup>7</sup>BROWN et al., 2006; <sup>8</sup>FISHMAN et al., 1998; <sup>9</sup>MEENAGH et al., 2002; <sup>10</sup>PARRA-ROJAS et al., 2006; <sup>11</sup>HOFFMANN et al., 2002; <sup>12</sup>VELEZ et al., 2007; <sup>13</sup>VOZAROVA et al., 2003; <sup>14</sup>KOMATSU et al., 2005; <sup>15</sup>CHUNG et al., 2003; <sup>16</sup>CHANG et al., 2005; <sup>17</sup>ZHAI, R.; LIU, G.; YANG, C. et al., The G to C polymorphism at -174 of the interleukin-6 gene is rare in Southern Chinese population. **Pharmacogenetics**, v. 11, p. 699-701, 2001. in PARRA-ROJAS et al., 2006; <sup>18</sup>MOSCOVIS et al., 2006; <sup>19</sup>KAHUR et al., 2007; <sup>20</sup>KARAHAN et al., 2005; <sup>21</sup>SARUHAN-DIREKENELI et al., 2006; <sup>22</sup>DANIKO et al., 2007; <sup>23</sup>TRAJKOV et al., 2005; <sup>24</sup>DROZDZIK et al., 2005; <sup>25</sup>SPRIEWALD et al., 2005; <sup>26</sup>REICH et al., 2003; <sup>27</sup>SCHOTTE et al., 2001; <sup>28</sup>MÖHLIG et al., 2004; <sup>29</sup>WALCH et al., 2004; <sup>30</sup>GREISENEGGER, E.; ENDLER, G.; HAERING, D. et al. The (-174)G/C polymorphism in the interleukin-6 gene is associated with severity of acute cerebrovascular events. **Thrombosis Research**, v. 110, p. 181-186, 1997. in PARRA-ROJAS et al., 2006; <sup>31</sup>HAMID et al., 2005; <sup>32</sup>OPDAL; ROGNUM., 2007; <sup>33</sup>EKLUND et al., 2003; <sup>34</sup>WANG et al., 2001; <sup>35</sup>HULKKONEN et al., 2002; <sup>36</sup>KELBERMAN et al., 2004; <sup>37</sup>HUMPHRIES et al., 2001; <sup>38</sup>BASSO et al., 2002; <sup>39</sup>JORDANIDES et al., 2000; <sup>40</sup>FLEX et al., 2004; <sup>41</sup>LANDI et al., 2003; <sup>42</sup>SETTIN et al., 2006; <sup>43</sup>ANNELLS et al., 2005.

NOTA: q frequência relativa do alelo -174C;

- dado numérico igual a zero não resultante de arredondamento numérico;

... dado não especificado na referência

<sup>(1)</sup> Dados inferidos pela autora com base na referência.

<sup>(2)</sup> Informações de estudo paciente/controle agrupadas, permitida pela variação não significativa.

<sup>(3)</sup> Dados não se encontram em equilíbrio de Hardy-Weinberg.

TABELA 5 - FREQUÊNCIAS GENOTÍPICAS E ALÉLICA PARA OS SNPs -597 e -572 DO GENE *IL6* EM DIFERENTES POPULAÇÕES MUNDIAIS

COMPOSIÇÃO	POPULAÇÃO	N	G/G	G/A	A/A	q'
...	Jamaicanos <sup>1</sup>	112	...	...	...	0,049
Afro-Descendentes	Norte-Americanos <sup>2</sup>	321	248 <sup>(1)</sup>	68 <sup>(1)</sup>	5 <sup>(1)</sup>	0,120
Caucasóides	Norte Americanos <sup>2</sup>	347	156 <sup>(1)</sup>	153 <sup>(1)</sup>	38 <sup>(1)</sup>	0,330
...	Norte-Americanos <sup>3</sup>	571	233	254	84	0,370 <sup>(2)</sup>
...	Norte-Americanos <sup>4</sup>	49	...	...	...	0,276 <sup>(2)</sup>
...	Japoneses <sup>5</sup>	189	189	-	-	-
...	Coreanos <sup>6</sup>	1082	1077	5	-	0,002
...	Turcos <sup>7</sup>	108	57	46	5	0,259
...	Húngaros, Romenos e Eslovácos	533	171	270	92	0,426
...	Dinamarqueses <sup>9</sup>	4181	1240 <sup>(1)</sup>	2028 <sup>(1)</sup>	913 <sup>(1)</sup>	0,461 <sup>(1)</sup>
...	Finlandeses <sup>10</sup>	179	...	...	...	0,544 <sup>(1)</sup>
...	Suecos <sup>11</sup>	450	...	...	...	0,467
...	Ingleses <sup>12</sup>	127	46	68	13	0,370
...	Escoceses <sup>13</sup>	73	...	...	...	0,432
Caucasóides	Espanhóis <sup>14</sup>	25	...	...	...	0,463 <sup>(2)</sup>

COMPOSIÇÃO	POPULAÇÃO	N	G/G	G/C	C/C	q''
...	Jamaicanos <sup>1</sup>	112	...	...	...	0,110
Afro-Descendentes	Norte-Americanos <sup>2</sup>	321	272 <sup>(1)</sup>	47 <sup>(1)</sup>	2 <sup>(1)</sup>	0,080 <sup>(2)</sup>
Caucasóides	Norte Americanos <sup>2</sup>	347	307 <sup>(1)</sup>	39 <sup>(1)</sup>	1	0,060
...	Norte-Americanos <sup>4</sup>	49	...	...	...	0,163 <sup>(2)</sup>
...	Japoneses <sup>5 (3)</sup>	77	4	32	41	0,740
...	Coreanos <sup>6</sup>	1063	576	411	76	0,265
...	Dinamarqueses <sup>9</sup>	4382	4037	325	20	0,042 <sup>(2)</sup>
...	Finlandeses <sup>10</sup>	179	...	...	...	0,052
...	Suecos <sup>11</sup>	450	...	...	...	0,050
...	Ingleses e Suecos <sup>15</sup>	241	215	26	-	0,054 <sup>(2)</sup>
...	Ingleses <sup>16</sup>	2458	2224	225	9	0,049
...	Ingleses <sup>12</sup>	127	111	15	1	0,067
...	Escoceses <sup>17</sup>	1077	959	116	2	0,056
...	Escoceses <sup>13</sup>	73	...	...	...	0,041
...	Franceses e Italianos <sup>15</sup>	306	260	43	3	0,080

FONTE:<sup>1</sup> KOMATSU et al., 2004; <sup>2</sup> VELEZ et al., 2007; <sup>3</sup> LAN et al., 2006; <sup>4</sup> RIVERA-CHAVEZ et al., 2003; <sup>5</sup> KOMATSU et al., 2005; <sup>6</sup> CHUNG et al., 2003; <sup>7</sup> SARUHAN-DIREKENELI et al., 2006; <sup>8</sup> WILKENING et al., 2006; <sup>9</sup> HAMID et al., 2005; <sup>10</sup> NOPONEN-HIETALA et al., 2005; <sup>11</sup> MÅLARSTIG; WALLENTIN; SIEGBAHN, 2007; <sup>12</sup> BRULL et al., 2001; <sup>13</sup> JORDANIDES et al., 2000; <sup>14</sup> VILLUENDAS et al., 2002; <sup>15</sup> KELBERMAN et al., 2004; <sup>16</sup> HUMPHRIES et al., 2001; <sup>17</sup> BASSO et al., 2002.

NOTA: Foram incluídas as frequências alélicas obtidas a partir dos haplótipos do Quadro 1.

q' frequência relativa do alelo -597A;

q'' frequência relativa do alelo -592C;

- dado numérico igual a zero não resultante de arredondamento numérico;

... dado não especificado na referência

(1) Dados aproximados, inferidos pela autora com base na referência.

(2) Dados inferidos pela autora com base na referência.

(3) Informações de estudo paciente/controle agrupadas, permitida pela variação não significativa.

## 5 DISCUSSÃO

Os polimorfismos das posições -597G>A, -572G>C e -174G>C possuem distribuição mundial heterogênea e nota-se um gradiente de suas frequências alélicas, relacionado com a distância geográfica. Os valores de  $q$  são mais constantes no continente Europeu ( $s^2 = 0,071$ ), sendo que na Ásia é possível notar-se este gradiente: a frequência do -174C diminui de acordo com a maior distância da Europa (Tabela 4), gerando a maior variação entre as amostras asiáticas ( $s^2 = 0,113$ ).

Nas Américas a variação ( $s^2 = 0,125$ ) é decorrente da estratificação da amostras feita em alguns dos estudos, o valor de  $q$  depende dos ancestrais formadores da população, aumentando conforme a contribuição européia. Por exemplo, os ameríndios com ascendência apenas Pima, não possuem o -174C, mas os mestiços o apresentam com frequência relativa de 0,145.

Observando-se o gradiente citado, o alelo -174C aparenta ser originado do centro-norte europeu, provavelmente Finlândia. É possível que tenha surgido em outro local, mas esta é uma provável região na qual houve um aumento da frequência deste alelo. É igualmente possível que tenha se originado ao norte ou leste finlandês, porém faltam informações sobre estas populações. Dentre os países asiáticos, a população russa é a que tem maior frequência do -174C, porém se refere a uma amostra da Basquíria, que se localiza ao sudoeste da Rússia, assim é possível que a frequência deste alelo seja maior em locais mais próximos da Finlândia.

Considerando-se que o alelo -174C se encontra em desequilíbrio de ligação com o -597A (JORDANIDES et al., 2000; BRULL et al., 2001; CHUNG et al., 2003; RIVERA-CHAVEZ, 2003; HAMID et al.; 2005; QI et al., 2006, MÄLARSTIG; WALLENTIN; SIEGBAHN, 2007 e VELEZ et al., 2007) e que ambos os alelos possuem frequências semelhantes em todas as populações em que foram analisados, apesar de haverem poucas informações sobre a distribuição mundial do SNP -597G>A, sua dispersão e possível origem podem ser explicadas por inferência, baseando-se no -174G>C, devido à sua ocorrência em conjunto.

O haplótipo GGC (posições -597, -572 e -174) apesar de raro, é mais frequente que o AGG (Quadro 1). É possível que o alelo -174C tenha surgido

primeiramente e, após intervalo de tempo evolutivamente curto, formou-se o haplótipo AGC a partir do GGC. O tempo transcorrido entre um evento e outro deve ter sido curto pois o haplótipo AGC é quase tão frequente quanto o GGG, além do fato das duas posições estarem em forte desequilíbrio de ligação. Outro fator que pode ser responsável pela maior frequência de AGC, é a seleção natural. Não há consenso sobre o como estes alelos interferem no fenótipo, mas seu efeito não aparenta ser nulo, assim pode ter ocorrido seleção favorável a este haplótipo. Fatores como deriva ou forte efeito fundador também poderiam ter favorecido este genótipo. Os haplótipos AGG e GGC podem ter se mantido ao longo do tempo, porém como suas frequências são baixas, provavelmente ressurgiram mais tarde, por permuta entre GGG e AGC, os haplótipos mais comuns.

A escassez de dados populacionais do SNP -572 G>C não permite analisar com confiança sua origem e distribuição, porém o polimorfismo deve ter surgido anteriormente aos outros dois SNPs, pois seus dois alelos estão presentes em todas as populações analisadas. A ocorrência de polimorfismos em todas as populações é condizente com uma mutação surgida anteriormente à dispersão do *Homo sapiens sapiens*, assim a variação alélica estaria presente mundialmente. Apesar de não haver dados de amostras africanas, pode-se observar sua presença em afro-descendentes norte-americanos indicando sua possível presença na África. O alelo -572C está presente com frequência muito alta no Japão (0,740), destoando mesmo da vizinha Coreia do Sul (0,265), provavelmente decorrente de efeito fundador ou deriva genética; a seleção natural poderia estar atuando à favor deste alelo também.

Os ameríndios, Na-Dene e Aleutas-Esquimós tiveram suas origens principalmente de povos asiáticos. Assim, se estes povos tivessem frequências de -572C equivalentes à encontrada atualmente em coreanos e japoneses, provavelmente os povos das Américas também apresentariam este alelo. Portanto, a presença dele em norte-americanos não caucasóides e jamaicanos poderia ser decorrente de miscigenação com ameríndios e não ser necessariamente uma contribuição africana. Neste caso, o alelo teria surgido posteriormente ao *Homo sapiens sapiens*, inclusive podendo ter se dispersado a partir de continente asiático – porém sua presença uniforme na Europa favorece a hipótese de ocorrência em ancestrais da espécie, na qual o alelo teria sido trazido pelos povos fundadores.

Nas amostras populacionais brasileiras (Tabela 3 e Quadro 2) apesar de não haver variação significativa, as amostras não caucasóides são as que possuem menores frequências do -174C, conforme o padrão observado mundialmente. Apenas dois dos estudos analisados possuíam tamanho amostral maior que 100 e isto pode estar influenciando na variação não significativa entre as populações.

As frequências do -174C estão com valores intermediários ( $\bar{x} = 0,2074$ ) aos das amostras mundiais ( $q = 0,000-0,551$ ), sendo condizente à miscigenação do país um valor intermediário entre as frequências de caucasóides, negros, ameríndios e orientais.

LIU et al. (2006) apresentaram a filogenia do *IL6* (Figura 1) formada por três clados principais, porém esta análise aborda apenas os três haplótipos mais comuns para os SNPs -597, -572 e -174, por ter base em uma amostra restrita, impedindo a detecção dos alelos menos comuns. O haplótipo GGG, que é o ancestral, presente em todas as populações mundiais, encontra-se nos clados 1 e 2, GCG pertence apenas a um ramo do clado 1 e AGC compõe todo o clado 3. A proposta de origem dos quatro haplótipos sugerida no presente trabalho corrobora esta filogenia.

O alelo -597A foi encontrando em baixas frequências em coreanos e jamaicanos, presente apenas em um haplótipo exclusivo para cada uma destas populações, ACC e ACG respectivamente. Estes haplótipos provavelmente são provenientes de migração recente, tendo surgido em outra população desconhecida, por mutação ou permuta. É possível também que tenha ocorrido equívoco na análise dos polimorfismos em tais populações. Os outros dois haplótipos AGG e GCC, também raros, não são exclusivos de nenhuma população estudada, podendo ser oriundos de permuta entre AGC e GCG.

Os dados sobre fenótipos determinados pelos polimorfismos do *IL6* são contraditórios, sugerindo uma relação complexa entre eles. Assim, a discordância entre estudos deve estar sendo gerada pela análise de um número insuficiente de polimorfismos, a discrepância de dados tende a aumentar ao se tratar de população de diferentes etnias, provavelmente devido à influência de outros alelos, ignorados na análise.

A cronologia do levantamento bibliográfico realizado demonstra uma preocupação inicial voltada apenas ao estudo do -174(G>C), postura que foi sendo alterada com o passar dos anos, abordando os demais polimorfismos,

principalmente após o estudo de haplótipos feitos *in vitro* por TERRY et al. (2000). Apesar destas novas análises, as informações não são esclarecedoras e é necessário o estudo dos haplótipos para se buscar uma relação *in vivo*.

## 6 CONCLUSÃO

Os SNPs -597 e -174 são característicos de populações europeias - sua frequência é um indicador da ancestralidade das populações ao menos quanto a ausência / presença do componente europeu. Para melhor compreensão da origem e distribuição dos três SNPs estudados, é importante a realização de mais investigações em outras populações, principalmente populações do oeste e do centro asiáticos, africanas e ameríndias.

Tratando-se de populações brasileiras, a amostra caucasóide de Mato Grosso do Sul e Paraná apresentou a maior frequência alélica do -174C, indicando uma maior contribuição europeia em sua formação. Assim, é provável que ao se analisar a amostra total da região metropolitana de Curitiba, cujo DNA encontra-se estocado no Laboratório de Genética Molecular Humana, a amostra caucasóide também possua frequências significativamente distintas da não caucasóide, por se tratar de uma população também paranaense. A análise da amostra total também possibilitará a melhor análise dos subgrupos mulato, oriental e indígena, que nesta análise foram mantidos em conjunto. É importante que posteriormente sejam estudadas outras regiões polimórficas do *IL6* visando a análise haplotípica.

A discordância de resultados encontrada entre estudos caso-controle visando verificar a possível influência do polimorfismo de *IL6* na susceptibilidade a doenças é justificada pela complexa interação entre os diferentes polimorfismos do gene e suas variações entre populações. É necessário trabalhar com a tipagem de haplótipos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANNELLS, M. F.; HART, P. H.; MULLIGHAN, C. G.; HEATLEY, S. L.; ROBINSON, J. S.; MCDONALD, H. M. Polymorphisms in immunoregulatory genes and the risk of histologic chorioamnionitis in Caucasoid woman: a case control study. **BMC Pregnancy and Childbirth**, v. 5, n. 4, 2005.

BABEL, N.; CHEREPNEV, G.; BABEL, D.; TROPMANN, A.; HAMMER, M.; VOLK, H.-D.; REINKE, P. Analysis of tumor necrosis factor- $\alpha$ , transforming growth factor- $\beta$ , interleukin-10, IL-6, and interferon- $\gamma$  gene polymorphisms in patients with chronic periodontitis. **Journal of Periodontology**, v. 77, p. 1978-83, 2006.

BASSO, F.; LOWE, G. D. O.; RUMLEY, A.; MCMAHON, A. D.; HUMPHRIES, S. E. Coronary heart disease in West of Scotland Coronary Prevention Study (WOSCOPS). **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 22, p. 599-604, 2002.

BOULANGER, M. J.; CHOW, D.-C.; BREVNOVA, E. E.; GARCIA, K. C. Hexameric structure and assembly of the interleukin-6/IL-6  $\alpha$ -receptor/gp130 complex. **Science**, v. 300, p. 2101-2104, 2003.

BROWN, E. E.; BROWN, B. J.; YEAGER, M.; WELCH, R.; CRANSTON, B.; HANCHARD, B.; HISADA, M. Haplotypes of *IL6* and *IL10* and susceptibility to Human T Lymphotropic Virus Type I Infection among children. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 194, p. 1565-1569, 2006.

BRULL, D. J.; MONTGOMERY, H. E.; SANDERS, J.; DHAMRAIT, S.; LUONG, L.; RUMLEY, A.; LOWE, G. D. O.; HUMPHRIES, S. E. Interleukin-6 gene -174G>C promoter polymorphisms are strong predictors of plasma interleukin-6 levels after coronary artery bypass surgery. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 21, p. 1458-1463, 2001.

CHANG, H. K.; JANG, W. C.; PARK, S. B.; HAN, S. M.; NAM, Y. H.; LEE, S. S.; KIM, J. U.; LEE, H. S. Association between interleukin 6 gene polymorphism and Behçet's disease in Korean people. **Annals of rheumatic diseases**, v. 64, p. 339-340, 2005.

CHUNG, H. W.; SEO, J.-S.; HUR, S. E.; KIM, H. L.; KIM, J. Y.; JUNG, J. H.; KIM, L. H.; PARK, B. L.; SHIN, H. D. Association of interleukin-6 promoter variant with bone mineral density in pre-menopausal woman. **Journal of Human Genetics**, v. 48, n. 5, p. 243-248, 2003.

COURTIN, D.; MILET, J.; JAMONNEAU, V.; YEMINANGA, C. S.; KUMESO, V. K. B.; BILENGUE, C. M. M.; BETARD, C.; GARCIA, A. Association between human African trypanosomiasis and the *IL6* in a Congolese population. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 7, p. 60-68, 2007.

COZEN, W.; GILL, P. S.; INGLES, S. A.; MASOOD, R.; MARTÍNEZ-MAZA, O.; COCKBURN, M. G.; GAUDERMAN, W. J.; PIKE, M. C.; BERNSTEIN, L.; NATHWANI, B. N.; SALAM, M. T.; DANLEY, K. L.; WAN, W.; GAGE, J.; GUNDELL-



MILLER, S.; MACK, T. M. IL-6 levels and genotype are associated with risk young adult Hodgkin lymphoma. **Blood**, v. 103, n. 8, p. 3216-3221, 2004.

DAHER, S.; SHULZHENKO, N.; MORGUN, A.; MATTAR, R.; RAMPIM, G. F.; CAMANO, L.; DELIMA, M. G. Associations between cytokine gene polymorphisms and recurrent pregnancy loss. **Journal of Reproductive Immunology**, v. 58, p. 69-77, 2003.

DANIKO, K. V.; KORYTYNA, G. F.; AKHMADISHINA, L. Z.; YANBAEVA, D. G.; ZAGIDULLIN, S. Z.; VICTOROVA, T. V. Association of polymorphism of cytokine genes (*IL1B*, *IL1RN*, *TNFA*, *LTA*, *IL6*, *IL8*, AND *IL10*) with chronic obstructive

DROZDZIK, M. KURZAWSKI, M.; DROZDZIK, A.; KOTRYCH, K.; BANACH, J.; PAWLIK, A. Interleukin-6 gene polymorphism in renal transplant patients with and without gingival overgrowth. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 32, p. 955–958, 2005

EKLUND, C.; JAHAN, F.; PESSI, T.; LEHTIMÄKI, T.; HURME, M. Interleukin 1B gene polymorphism is associated with baseline C-reactive protein levels in healthy individuals. **European Cytokine Network**, v. 14, n. 3, p. 168-171, 2003

FERNÁNDEZ-REAL, J.-M.; BROCH, M.; VENDRELL, J.; RICHART, C.; RICART, W. Interleukin-6 gene polymorphism and lipid abnormalities in healthy subjects. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 85, n. 3, p. 1334-1339, 2000.

FERNÁNDEZ-REAL, J.-M.; RICART, W. Insulin resistance and inflammation in an evolutionary perspective: the contribution of cytokine genotype/phenotype of thriftiness. **Diabetologia**, v. 42, p. 1367-1374, 1999

FISHMAN, D. FAULDS, G.; JEFFERY, R.; MOHAMED-ALI, V.; YUDKIN, J. S.; HUMPHRIES, S.; WOO, P. The effect of novel polymorphisms in the interleukin-6 (IL-6) gene on IL-6 transcription and plasma IL-6 levels, and an association with systemic-onset juvenile chronic arthritis. **The Journal of Clinical Investigation**, v.102, n. 7, p. 1369-1376, 1998.

FLEX, A.; GAETANI, E.; PAPALETTO, P.; STRAFACE, G.; PROIA, A. S.; PERCORINI, G.; TONDI, P.; POLA, P.; POLA, R. Proinflammatory genetic profiles in subjects with history of Ischemic Stroke. **Stroke**, v. 35, p. 2270-2275, 2004.

GILLESPIE, K. M.; NOLSOE, R.; BETIN, V. M.; KRISTIANSEN, O. P.; BINGLEY, P. J.; MANDRUP-POULSEN, T.; GALE, E. A. M. Is puberty an accelerator of type 1 diabetes in *IL6-174CC* females? **Diabetes**, v. 54, p. 1245-1248., 2005.

GUIMARÃES, A. L. S. G.; CORREIA-SILVA, J. de F.; SÁ, A. R. de; VICTÓRIA, J. M. N.; DINIZ, M. G.; COSTA, F. de O.; GÓMEZ, R. S. Investigation of functional gene polymorphisms IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10 and TNF- $\alpha$  in individuals with recurrent aphthous stomatitis. **Archives of Oral Biology**, v. 52, p. 268-272, 2007.

HAMID, Y. H.; ROSE, C. S.; URHAMMER, S. A.; GLÜMER, C.; NOLSOE, R.; KRISTIANSEN, O. P.; MANDRUP-POULSEN, T.; BORCH-JOHNSEN, K.; JORGENSEN, T.; HANSEN, T.; PEDERSEN, O. Variations of the interleukin-6

promoter are associated with features of the metabolic syndrome in Caucasian Danes. **Diabetologia**, v. 408, 251-260, 2005.

HEFLER, L. A.; GRIMM, C.; LANTZSCH, T.; LAMPE, D.; LEODOLTER, S.; KOELBL, H.; HEINZE, G.; REINTHALLER, A.; TONG-CACSIRE, D.; TEMPFER, C.; ZEILLINGER, R. Interleukin-1 and Interleukin-6 gene polymorphisms and the risk of breast cancer in Caucasian women. **Clinical Cancer Research**, v. 11, n. 16, p. 5718-5721, 2005.

HENAO, M. I.; MONTES, C.; PARÍS, S. C.; GARCÍA, L. F. Cytokine gene polymorphism in Colombian patients with different clinical presentations of tuberculosis. **Tuberculosis**, v. 86, p. 11-19, 2006.

HOFFMANN, S. C.; STANLEY, E. M.; COX, E. D.; DIMERCURIO, B. S.; KOZIOL, D. E.; HARLAN, D. M.; KIRK, A. D.; BLAIR, P. J. Ethnicity greatly influences cytokine gene polymorphism distribution. **American Journal of Transplantation**, v. 2, 560-567, 2002.

HULKKONEN, J.; PETOVAARA, M.; ANTONEN, J.; PASTERNAK, A.; HURME, M. Elevated interleukin-6 plasma levels are regulated by the promoter region polymorphism of the *IL6* gene in primary Sjögren's syndrome and correlate with the clinical manifestations of the disease. **Rheumatology**, v. 40, p. 656-661, 2001.

HUMPHRIES, S. E.; LUONG, L. A.; OGG, M. S.; HAWE, E.; MILLER, G. J. The interleukin-6 -174 G/C promoter polymorphism is associated with risk of coronary heart disease and systolic blood pressure in healthy men. **European Heart Journal**, V. 22, P. 2243-2252, 2001.

HURLEY, C. K.; FERNANDEZ-VINA, M.; MIDDLETON, D.; NG, J.; NOREEN, H.; REN, E. C.; SCHMECKPEPER, B.; SMITH, A.; TANG, T. TOKUNAGA, K. (Org.). HLA Class I and II DNA-Based Typing Sequence Specific Oligonucleotide Probe Typing Technical Manual/Reference Protocols, versão 1.1. In: THIRTEENTH INTERNATIONAL HISTOCOMPATIBILITY WORKSHOP, 1998. Disponível em: <<http://www.ihwg.org/protocols/man1.htm>>.

HUTH, C.; HEID, I. M.; VOLLMERT, C.; GIEGER, C.; GRALLERT, H.; WOLFORD, J. K.; LANGER, B.; THORAND, B.; KLOPP, N.; HAMID, Y. H.; PEDERSEN, O.; HANSEN, T.; LYSSSENKO, V.; GROOP, L.; MEISINGER, C.; DÖRING, A.; LÖWEL, H.; LIEB, W.; HENGSTENBERG, C.; RATHMANN, W.; MARTIN, S.; STEPHENS, J. W.; IRELAND, H.; MATHER, H.; MILLER, G. J.; STRINGHAM, H. M.; BOEHNKE, M.; TUOMILEHTO, J.; BOEING, H.; MÖHLIG, M.; SPRANGER, J.; PFEIFFER, A.; WERNSTEDT, I.; NIKLASON, A.; LÓPEZ-BERMEJO, A.; FERNÁNDEZ-REAL, J.-M.; HANSON, R. L.; GALLART, L.; VENDRELL, J.; TSIAMOU, A.; HATZIAGELAKI, E.; HUMPHRIES, S. E.; WICHMANN, H-E; HERDER, C.; ILLIG, T. *IL6* gene promoter polymorphisms and type 2 diabetes. **Diabetes**, v. 55, p. 2915-2921, 2006.

IBGE. **Tab01.xls**. Tabela 1 - População total e a sua respectiva distribuição percentual, por sexo e situação do domicílio, proporção de pessoas naturais dos municípios - Paraná - 2000. [S. I.], 09 dez. 2004 (a). Arquivo compactado (80,0 KB),

disponível em <ftp://ftp.ibge.gov.br/Censos/Censo\_Demografico\_2000/Indicadores\_Sociais/UFs/>. Microsoft® Office Excel 2003.

IBGE. **Tab03.xls**. Tabela 3 - Distribuição percentual da população residente, por cor - Paraná - 2000. [S. l.], 09 dez. 2004 (b). Arquivo compactado (71,5 KB), disponível em <ftp://ftp.ibge.gov.br/Censos/Censo\_Demografico\_2000/Indicadores\_Sociais/UFs/>. Microsoft® Office Excel 2003.

JANEWAY, C. A.; TRAVERS, P.; WALPORT, M.; SHLOMCHIK, M. **Imunobiologia**: o sistema immune na saúde e na doença. Tradução; Cristiana Bonorino, Daniela Martino Roth, Denise Cantarelli Machado, Florência Maria Barbé Tuana e Moisés Evandro Bauer. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2002.

JENG, J.-R., WANG, J.-W.; LIU, W.-S., CHEN, S.-P.; CHEN, M. Y.-C.; WU, M.-H.; HSU, W.-L.; LIN, S.-Z. Association of interleukin-6 gene G-174C polymorphism and plasma plasminogen activator inhibitor-1 level in Chinese patients with and without hypertension. **American Journal of Hypertension**, v. 18, n. 4, 2005.

JORDANIDES, N.; ESKDALE, J.; STUART, R.; GALLAGHER, G. Allele associations reveal four prominent haplotypes at the human interleukin-6 (IL-6) locus. **Genes and Immunity**, v. 1, p. 451-455, 2000.

KALLEN, K.-J. The role of transsignalling via the agnostic soluble IL-6 receptor in human diseases. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1592, n. 3, p. 323-343, 2002. Resumo.

KARAHAN, Z. C.; DEDA, G.; SIPAHI, T.; ELHAN, A. H.; AKAR, N. TNF- $\alpha$  -308G/A and IL-6 -174 G/C polymorphisms in the Turkish pediatric stroke patients. **Thrombosis Research**, v. 115, p. 393-398, 2005.

KAUR, G.; RAPTHAP, C. C.; KUMAR, N.; KUMAR, S.; NEOLIA, S.; MEHRA, N. K. Frequency distribution of cytokine gene polymorphisms in the healthy North Indian population. **Journal Compilation**, v. 69, p. 113-120, 2007.

KELLER, T. K., WANAGAT, J., ERSHLER, W. B. Molecular and cellular biology of interleukin-6 and its receptor. **Frontiers in Bioscience**, v. 1, p. 340-357, 1996.

KERLBERMAN, D.; HAWES, E.; LUONG, L. A.; MOHAMED-ALI, V.; LUNDMAN, P.; TORNVALL, P.; AILLAUD, M. F.; JUHAN-VAGUE, I.; YUDKIN, J. S.; MARGAGLIONE, M.; MINNO, G. di; TREMOLI, E.; HUMPHRIES, S. E. Effect of interleukin-6 promoter polymorphisms in survivors of myocardial infarction and matched controls in the North and South of Europe. **Thromb Haemost**, v. 92, p. 112-1128, 2004.

KISHIMOTO, T.; AKIRA, S.; NARAZAKI, M.; TAGA, T. Interleukin-6 family of cytokines and gp130. **Blood**, v. 86, n. 4, 1995.

KOMATSU, Y; TAI, H.; GALICIA, J. C.; SHIMADA, Y; ENDO, M.; AKAZAWA, K.; YAMAZAKI, K.; YOSHIE, H. Interleukin-6 (IL-6) -373 A9T11 allele is associated with reduced susceptibility to chronic periodontitis in Japanese subjects and decreased serum IL-6 level. **Tissue Antigens**, v. 65, p. 110-114, 2005.

LAN, Q.; ZHENG, T.; ROTHMAN, N.; ZHANG, Y.; EANG, S. S.; SHEN, M.; BERNDT, S. I.; ZAHM, S. H.; HOLFORD, T. R.; LEADERER, B.; YEAGER, M.; WELCH, R.; BOYLE, P.; ZHANG, B.; ZOU, K.; ZHU, Y.; CHANOCK, S. Cytokine polymorphism in the Th1/Th2 pathway and susceptibility to non-Hodgkin-lymphoma. **Blood**, v. 107, n. 10, p. 4101-4108, 2006.

LANDI, S.; MORENO, V.; GIOIA-PATRICOLA, L.; GUINO, E.; NAVARRO, M.; OCA, J. de; CAPELLA, G.; CANZIAN, F. Association of Common polymorphisms in inflammatory genes interleukin (*IL*)6, *IL*8, Tumor Necrosis Factor  $\alpha$ , *NFKB1*, and peroxisome proliferator-activated Receptor  $\gamma$  with colorectal cancer. **Cancer Research**, n. 63, p. 3560-3566, 2003.

LINSINGEN, R. von; BOMPEIXE, E. P.; BICALHO, M. A. da G. A case-control study in *IL6* and *TGFB1* gene polymorphisms and recurrent spontaneous abortion in southern Brazilian patients. **American Journal of Reproduction Immunology**, v. 53, 94-99, 2005.

LIU, Y.; BERTHIER-SCHAAD, Y.; FALLIN, M. D.; FINK, N. E.; TRACY, R. P.; KLAG, M. J.; SMITH, M. W.; CORESH, J. IL-6 haplotypes, inflammation, and risk for cardiovascular disease in a multiethnic cohort. **Journal of American Society of Nefrology**, v. 17, p. 863-870, 2006.

MÄLARSTIG, A.; WALLENTIN, L.; SIEGBAHN, A. Genetic variation in the interleukin-6 gene in relation to risk and outcomes in acute coronary syndrome. **Thrombosis Research**, v.119, p. 467-473, 2007.

MEENAGH, A.; WILLIAMS, F.; ROSS, O. A.; PATTERSON, C.; GORODEZKY, C.; HAMMOND, M.; LEHENY, W. A.; MIDDLETON, D. Frequency of cytokine polymorphisms in populations from Western Europe, Africa, Asia, the Middle East and South America. **Human Immunology**, v. 63, p. 1055–1061, 2002.

MICHAELE, F. A. S. Formação étnica do Paraná. In: EL-KHATIB (Org. e Coord.). **História do Paraná**. 2. ed. Curitiba: GRAFIPAR, 1969. v. 3, p. 71-142.

MILLER, M. P. RXC: a program for the analysis of contingency tables via metropolis algorithm computer. **Department of Biological Sciences**, Northern Arizona University, Flastaff, 1997.

MÖHLIG, M.; BOEING, H.; SPRANGER, J.; OSTERHOFF, M.; KROKE, A.; FISHER E.; BERGMANN, M. M.; RISTOW, M.; HOFFMANN, K.; PFEIFFER, A. F. H. Body mass index and C-174G interleukin-6 promoter polymorphism interact in predicting type 3 diabetes. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 89, n. 4, p. 1885-1889, 2004.

MOSCOVIS, S. M.; GORDON, A. E.; MADANI, O. M. al; GLEESON, M.; SCOTT, R. J.; ROBERTS-THOMSON, J.; BUSUTTIL, A.; BLACKWELL, C. C. *IL6* G-174C associated with sudden infant death syndrome in a Caucasian Australian cohort. **Human Immunology**, n. 67, p. 819-825, 2006.

NAKA, T.; NISHIMOTO, N.; KISHIMOTO, T.; The paradigm of IL-6: from the basic science to medicine. **Arthritis Res**, v. 4, p. 233-242, 2002.

NOPONEN-HIETALA, N.; VIRTANEN, I.; KARTTUNEN, R.; SCHWENKE, S.; JAKKULA, E.; LI, H.; MERIKIVI, R.; BARRAL, S.; OTT, J.; KARPPINEN, J.; ALA-KOKKO, L. Genetic variations in *IL6* associate with intervertebral disc disease characterized by sciatica. **Pain**, v. 114, p. 186-194, 2005.

OPDAL, S. H.; ROGNUM, T. O.. The *IL6* -174G/C polymorphism and sudden infant death syndrome. **Human Immunology**, v. 68, p. 541-543, 2007.

OPPENHEIM, J. J.; RUSCETTI, F. W. Cytokines. In: STITES, D. P.; TERR, A. I., PARSLOW, T. G. **Medical Immunology**. 9. ed. Stamford: Appleton & Lange, 1997.

OTA, N.; NAKAJIMA, T.; NAKAZAWA, I.; SUZUKI, T.; HOSOI, T.; ORIMO, H.; INOUE, S.; SHIRAI, Y.; EMI, M. A nucleotide variant in the promoter region of the interleukin-6 gene associated with decreased bone mineral density. **Journal of Human Genetics**, v. 46, p. 267-272, 2001.

PARK, B. L.; LEE, H.-S.; KIM, J. Y.; JUNG, J. H.; KIM, L. H.; SHIN, H. D. Association between interleukin 6 promoter variants and chronic hepatitis B progression. **Experimental and Molecular Biology**, v. 35, n. 2, p. 76-82, 2003.

PARRA-ROJAS, I.; RUÍZ-MADRIGAL, B.; MARTÍNEZ-LÓPEZ, E.; PANDURO, A. Influence of the *-308 TNF- $\alpha$*  and *-174 IL-6* polymorphism on lipid profile in Mexican subjects. **Hereditas**, v. 143, p. 167-172, 2006.

PEREIRA, N. F. **Investigação de fatores genéticos na patogênese do pênfigo foliáceo endêmico**: análise de associação com genes de citocinas e microssatélites do complexo principal de histocompatibilidade. Curitiba, 2004. 132 f. Tese (Doutorado em Genética) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

PEREIRA, N. F.; HANSEN, LIN, M. T.; ROXO, V. M. M. S.; BRAUN, K.; PETZLERLER, M. L. Cytokine gene polymorphisms in endemic pemphigus foliaceus: a possible role for *IL6* variants. **Cytokine**, v. 28, n. 6, p. 233-241, 2004.

PIERONI, F.; LOURENÇO, D. M.; MORELLI, V. M.; MAFFEI, F. H.; ZAGO, M. A.; FRANCO, R. F. Cytokine gene variants and venous thrombotic risk in the BRATROS (Brazilian Thrombosis Study). **Thrombosis Research**, no prelo.

POLA, R.; FLEX, A.; GAETANI, E.; FLORE, R.; SERRICCHIO, M.; POLA, P. Synergistic effect of *-174 G/C* polymorphism of the interleukin-6 gene promoter and *469 E/K* polymorphism of the Intercellular Adhesion Molecule-1 gene in Italian patients with history of ischemic stroke. **Stroke**, v. 34, p. 881-885, 2003.

PRIGOSHIN, N.; TAMBUTTI, M.; LARRIBA, J.; GOGORZA, S.; TESTA, R. Cytokine gene polymorphism in recurrent pregnancy loss of unknown cause. **American Journal of Reproductive Immunology**, v. 52, p. 36-41, 2004.

- PROBST, C. M.; BOMPEIXE, E. P.; PEREIRA, N. F.; DALALAI, M. M. de O.; VISENTAINER, J. E. L.; TSUNETO, L. T.; PETZL-ERLER, M. L. HLA polymorphism and evaluation of European, African and Amerindian contribution to the White and Mulatto populations from Paraná, Brazil. **Human Biology**, v. 72, n. 4, p. 597-617, 2000.
- QI, L.; DAM, R.M. van; MEIGS, J. B.; MANSON, J. E.; HUNTER, D.; HU, F. B. Genetic variation in *IL6* gene and type 2 diabetes: tagging-SNP haplotype analysis in large-scale case-control study and meta-analysis. **Human Molecular Genetics**, v. 15, n. 11, p. 1914-1920, 2006.
- RAVAGLIA, G.; FORTI, P.; MAIOLI, F.; CHIAPPELLI, M.; DOLZANI, P.; MARTELLI, M.; BIANCHIN, M.; MARIANI, E.; BOLONDI, L.; LICASTRO, F. **Biogerontology**, v. 6, p. 415-423, 2005.
- REICH, K.; WESTPHAL, G.; KÖNIG, I. R.; MÖSSNER, R.; SCHUPP, P. S.; GUTGESELL, C.; HALLIER, E.; ZIEGLER, A.; NEUMANN, C. Cytokine gene polymorphisms in atopic dermatitis. **British Journal of Dermatology**, v. 148, p. 1237-1241, 2003.
- RIVERA-CHAVEZ, F. A.; PETERS-HYBKI, D. L.; BARBER, R. C.; O'KEEFE, G. E. Interleukin-6 promoter haplotypes and interleukin-6 cytokine responses. **Shock**, v. 20, n. 3, p. 218-223, 2003.
- SARUHAN-DIRESKENELI, G.; BIÇAKÇIGIL, M.; TILMAZ, V.; KAMALI, S.; AKSU, K.; FRESKO, I.; AKKOÇ, N.; KIRAZ, S.; ÖZER, H. T. E.; TUNÇ, E.; YÜCEL, E.; KARAARSLAN, Y.; UYAR, F. A.; DOGANAVŞARGIL, E.; INANC, M., DIRESKENELI, H. Interleukin (IL)-12, IL-2, and IL-6 gene polymorphism in Takayasu's arteritis from Turkey. **Human Immunology**, v. 67, p. 735-740, 2006.
- SCHNEIDER, S.; ROESSLI, D.; EXCOFFIER, L. **Arlequin v. 2.000**: a software for population genetic data analysis. Genebra: Genetics and Biometry Laboratory, Department of Antropology, University of Genebra, 2000.
- SCHOTTE, H.; SCHLÜTER, RUST, S.; ASSMANN, G.; DOMSCHKE, W.; GAUBITZ, M. Interleukin-6 promoter polymorphism (-174 G/C) in caucasian German patients with systemic lupus erythematosus. **Rheumatology**, v. 40, p. 393-400, 2001.
- SETTIN, A.; SEIF, M. A.; SHAHAT, M. A.; EL-BAZ, R.; EL-KHEIR, E. A. Gene polymorphisms of TNF- $\alpha$ -308(G/A), IL-10-1082(G/A), IL6-174(G/C) and IL1Ra(VNTR) in Egyptian cases with adult and early onset periodontitis. **The Internet Journal of Dental Science**, v. 4, n. 1, 2006.
- SOUZA, N. C. N. de; BRENNAN, S. M. F.; CAMPOS, F.; SYRJÄNEN, K. J.; BARACAT, E. C.; SILVA, I. D. C. G. Interleukin-6 polymorphisms and the risk of cervical cancer. **International Journal of Gynecological Cancer**, v. 16, n. 3, p. 1278-1282, 2006.
- SPRIEWALD, B. M.; WITZKE, O.; WASSMUTH, R.; WENZEL, R. R.; ARNOLD, M.-L.; PHILIPP, T.; KALDEN, J. R. Distinct tumor necrosis factor  $\alpha$ , interferon  $\gamma$ , interleukin 10, and cytotoxic T cell antigen 4 gene polymorphisms in disease

occurrence and end stage renal disease in Wegener's granulomatosis. **Annals of the Rheumatic Diseases**, v. 64, p. 457-461, 2005.

TERRY, C. F.; LOUKACI, V.; GREEN, F. R. Cooperative Influence of Genetic Polymorphisms on Interleukin 6 Transcriptional Regulation. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 275, n. 24, p. 18138-18144, 2000.

TRAJKOV, D.; ARSOV, T.; PETLICHKOVSKI, A.; STREZOVA, A.; EFINSKA-MLADENOVSKA, O.; SPIROSKI, M. Cytokine gene polymorphisms in population of ethnic Macedonians. **Croatian Medical Journal**, v. 46, n. 4, p. 685-692, 2005.

TREVILATTO, P. C.; SCAREL-CAMINAGA, R. M.; BRITTO JÚNIOR, R. B. de; SOUZA, A. P. de; LINE, S. R. P. Polymorphism at position -174 of IL-6 gene is associated with susceptibility to chronic periodontitis in a Caucasian Brazilian population. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 30, p. 438-442, 2003.

TSENG, L.-H.; CHEN, P.-J.; KIN, M.-T.; SINGLETON, K.; MARTIN, E. G.; YEN, A.-H.; CHUANG, S.-M.; MARTIN, P. J.; HANSEN, J. A. Simultaneous genotyping of single nucleotide polymorphisms in the IL-6, IL-10, TNF $\alpha$  and TNF $\beta$  genes. **Tissue Antigens**, v. 59, n. 4, p. 280-286, 2002.

VELEZ, D. R.; MENON, R.; THORSEN, P.; JIANG, L.; SIMHAN, H.; MORGAN, N.; FORTUNATO, S. J.; WILLIAMS, S. M. Ethnic differences in interleukin 6 (IL-6) and IL6 receptor genes in spontaneous preterm birth and effects on amniotic fluid protein levels. **Annals of Human Genetics**, v. 71, p. 1-15, 2007

VILLUENDAS, G.; SAN MILLÁN, J. L.; SANCHO, J.; ESCOBAR-MORREALE, H. F. The -597 G $\rightarrow$ A and -174 G $\rightarrow$ C polymorphism of the IL-6 gene are associated with hyperandrogenism. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 87, n.3, p. 1134-1141, 2002.

VOZAROVA, B.; FERNÁNDEZ-REAL, J.-M.; KNOWLER, W. C.; GALLART, L.; HANSON, R. L.; GRUBER, J. D.; RICART, W.; VENDRELL, J.; RICHART, C.; TATARANNI, P. A. The interleukin-6 (-174) G/C promoter polymorphism is associated with type-2 diabetes mellitus in Native Americans and Caucasians. **Human Genetics**, v. 112, p. 409-413, 2003.

WALCH, K.; GRIMM, C.; ZEILINGER, R.; HUBER, J. C.; NAGELE, F.; HEFLER, L. A. A common interleukin-6 gene promoter polymorphism influences the clinical characteristics of women with polycystic ovary syndrome. **Fertility and Sterility**, v. 81, n. 6, 2004.

WANG, X.-Y.; HURME, M.; JYLHÄ, M.; HERVONEN, A. Lack of association between human longevity and polymorphisms of IL-1 cluster, IL-6, IL-10 and TNF- $\alpha$  genes in Finnish nonagenarians. **Mechanisms of Ageing and Development**, v. 123, p. 29-38, 2001.

WILKENING, S.; HEMMINKI, K.; RUDNAI, P.; GURZAU, E.; KOPPOVA, K.; KUMAR, R.; FÖRSTI, A. Case-control study in basal cell carcinoma of the skin: single nucleotide polymorphisms in three interleukin promoters pre-analysed in pooled DNA. **British Journal of Dermatology**, v. 155, p; 1139-1144, 2006.

