

Relación de los polimorfismos G-174C y G-572C de la interleucina-6 y C-511T y C+3953T de la interleucina-1 con la cardiopatía isquémica en Quito, Ecuador

Relationship of Interleukin-6 G-174C and G-572C and Interleukin-1 C-511T and C+3953T Polymorphisms with Ischemic Cardiomyopathy in Quito, Ecuador

ROSA I. COLINA CIFUENTES^{1,*}, LUIS A. CÁRDENAS ARGÜELLO¹, EDWIN GUZMÁN CLAVIJO², FABIÁN S. CRUZ MURILLO¹, FÁTIMA L. CAIZA LLUMIQUINGA¹, ROMMEL ESPINOZA DE LOS MONTEROS DUCHE¹, YOSSELIN VICUÑA¹

RESUMEN

Introducción: En los últimos años se ha evidenciado que los procesos inflamatorios están directamente relacionados con la formación de la placa aterosclerótica, causante de la cardiopatía isquémica (CI). Por esta razón, toda molécula relacionada con aquellos procesos es de vital importancia. Las interleucinas (IL) son citoquinas proinflamatorias y sus polimorfismos aparentemente incrementan el proceso inflamatorio. Los más asociados con la cardiopatía isquémica son algunos polimorfismos de las interleucinas 1 (IL-1) y 6 (IL-6).

Objetivos: Establecer la relación de los polimorfismos G-174C y G-572C de la interleucina-6 y C-511T y C+3953T de la interleucina-1 con la cardiopatía isquémica.

Material y métodos: Se desarrolló un estudio de tipo analítico retrospectivo, de 76 casos y 76 controles, de pacientes atendidos en el servicio de hemodinámica del Hospital Carlos Andrade Marín (HCAM), de Quito. La genotipificación se hizo mediante la reacción en cadena de la polimerasa con enzimas de restricción (PCR-RFLP).

Resultados: De los cuatro polimorfismos estudiados, únicamente el *IL-6 174 GG* tuvo una asociación estadísticamente significativa con la cardiopatía isquémica. La regresión logística usada para determinar los predictores más importantes de cardiopatía isquémica mostró que el genotipo *IL-6 174 GG* (OR 4,065, $p = < 0,001$) se asoció con un incremento del riesgo de presentar cardiopatía isquémica de forma independiente.

Conclusiones: El genotipo *GG* del polimorfismo *IL-6 G-174C* confiere un riesgo 4 veces superior de desarrollar cardiopatía isquémica, mientras que los tres polimorfismos restantes no confieren riesgos.

Palabras claves: Enfermedad de la Arteria Coronaria - Aterosclerosis - Polimorfismo Genético - Interleucina-1 - interleucina-6

ABSTRACT

Background: It has been recently found that inflammatory processes are directly related to the development of atherosclerotic plaque, causing ischemic heart disease. For this reason, every molecule related to these processes is critically important. Interleukins (IL) are proinflammatory cytokines, and their polymorphisms seem to increase the inflammatory progress. IL-1 and IL-6 polymorphisms are the ones most significantly associated with ischemic heart disease.

Objectives: The aim of this study was to establish the relationship of IL-6 G-174C and G-572 C and IL-1 C-511T and C+3953T polymorphisms with ischemic heart disease.

Methods: A retrospective study of 76 cases and 76 controls was carried out in patients attending the hemodynamics service of Carlos Andrade Marín Hospital (HCAM) of Quito, Ecuador. Genotyping was done on the basis of polymerase chain reaction with restriction enzymes (PCR-RFLP).

Results: Among the four polymorphisms studied, only IL-6 -174 GG was significantly associated with ischemic heart disease. The logistic regression analysis used to determine the most important predictors of ischemic heart disease showed that the IL-6 -174 GG genotype was associated with an increased risk of independently presenting ischemic heart disease (OR 4.065, $p \leq 0.001$).

Conclusions: The GG genotype of IL-6 G-174C polymorphism confers a fourfold higher risk of developing ischemic heart disease, while the remaining three polymorphisms do not pose risks in this human population.

Key words: Coronary Artery Disease - Atherosclerosis - Polymorphism, Genetic - Interleukin-1 - Interleukin-6

REV ARGENT CARDIOL 2019;87:98-102. <http://dx.doi.org/10.7775/rac.es.v87.i2.14330>

Dirección para separatas: Rosa Inés Colina Cifuentes. Av. 12 de Octubre 1076 y Roca, Quito, Ecuador, Apartado postal: 17 01 21 84, Teléfono: (593) 02 2991 700 ext. 2760, ricolina@puce.edu.ec.

¹Laboratorio de Investigación de Biología Molecular, Facultad de Medicina, PUCE, Quito, Ecuador.

²Servicio de Hemodinámica, Hospital Carlos Andrade Marín, Quito, Ecuador.

Fuentes de apoyo: Esta investigación fue financiada en su totalidad por la Pontificia Universidad Católica del Ecuador.

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades cardiovasculares son una de las mayores causas de morbilidad y mortalidad del mundo occidental y están relacionadas con patologías como la diabetes mellitus, la dislipidemia y la hipertensión; también con hábitos tóxicos como el tabaquismo y el consumo de alcohol, entre otros. (1) En los últimos años, sin embargo, se han investigado nuevos factores de riesgo que no se relacionan con el estilo de vida de los pacientes, sino con el proceso inflamatorio, cuyo mecanismo es clave para la formación de la placa aterosclerótica. (2) Tal es el caso de mutaciones encontradas en interleucinas (IL), moléculas que participan en el proceso inflamatorio. (3) Las interleucinas IL-1 e IL-6, por ejemplo, son péptidos señalizadores producidos como consecuencia de la agresión a un tejido, y ocasionan la respuesta inflamatoria.

Varios estudios han demostrado que existen algunos polimorfismos de nucleótidos simple de las interleucinas IL-1 e IL-6 que presentan asociación con la cardiopatía isquémica, los más estudiados son *IL-1 β C-511T* (Rs16944), *IL-1 β C+3953T* (Rs1143634), *IL-6 G-174C* (Rs1800795) e *IL-6 G-572C* (Rs1800796). El objetivo de este trabajo fue relacionar los cuatro polimorfismos de *IL-6* e *IL-1* antes mencionados con el riesgo de presentar cardiopatía isquémica (CI), en una muestra de la población ecuatoriana.

MATERIAL Y MÉTODOS

Población de estudio

Se diseñó un estudio de casos y controles. El grupo de casos estuvo conformado por 76 pacientes que cumplieron con criterios para el diagnóstico de CI, los cuales se tomaron de las guías de la ACCF/AHA. Estos criterios fueron los siguientes: dos episodios de angina en reposo o un episodio de más de 20 minutos de duración en las últimas 48 horas, elevación del segmento ST diagnosticado por electrocardiografía (EKG) durante la angina, con movilización o no de enzimas de isquemia cardíaca (CK-Mb/troponina T), estenosis mayor del 50% demostrado por angiografía.

El grupo control estuvo conformado por 76 individuos sin antecedentes de enfermedad cardíaca, que acudieron por motivo de consulta distinto a la cardiopatía isquémica. En ambos casos los individuos fueron ecuatorianos, seleccionados en el servicio de hemodinámica del Hospital Carlos Andrade Marín de la ciudad de Quito, en el período agosto de 2014 a diciembre de 2015.

Obtención de ADN y genotipificación

Las muestras de sangre venosa fueron recogidas en tubos con EDTA para obtener ADN genómico. Este fue aislado a partir de los leucocitos, utilizando el kit comercial Wizard Genomic DNA Purification Kit. El ADN fue cuantificado por espectrofotometría a 260 nm y 280 nm en el equipo NanoDrop 2000®, de Thermo Scientific, y diluido hasta una concentración de 20 ng/ μ L.

La región del ADN que contiene el sitio polimórfico fue amplificada por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Se obtuvo un volumen final de 25 μ L para cada muestra (polimorfismos IL-1 e IL-6): 12,5 μ L de GoTaq® Green Master Mix (Promega), 0,5 μ L de primer FW y 0,5 μ L de primer RV

(Invitrogen), 3 μ L de DNA y 8,5 μ L de agua UltraPure™ libre de nucleasas (Invitrogen). Los parámetros del ciclado para IL-1 fueron 94 °C por 3 minutos y luego 35 ciclos de 95 °C por 2 minutos, 53 °C por 1 minuto y 74 °C por 1 minuto, seguidos de una extensión final a 72 °C por 5 min. Los parámetros del ciclado para IL-6 fueron 94 °C por 10 minutos y luego 35 ciclos de 95 °C por 1 minuto, 55 °C por 1 minuto 35 segundos y 72 °C por 1 minuto, seguidos de una extensión final a 72 °C por 10 min. Los productos de amplificación fueron digeridos con enzimas de restricción específicos, luego separados por electroforesis horizontal en geles de agarosa (2,5 % p/v) teñidos con Gel Stain (Lonza). Los primers y las enzimas utilizadas se detallan en la Tabla 1.

Análisis estadístico

El tamaño de la muestra se calculó sobre la base de un nivel de confianza del 95%, para un poder del estudio del 80%. La frecuencia esperada de exposición en los controles fue de 32% y en los casos de 60%, y se le añadió un 20% más considerando pérdida y error.

Se desarrolló un estudio analítico retrospectivo de casos y controles. El análisis estadístico se realizó en el programa SPSSv23. Las diferencias en las frecuencias de los alelos y otras variables categóricas se compararon entre casos y controles con el test de Pearson χ^2 o test de Fisher. Se calculó tanto el OR como la regresión logística, considerando un valor de $p < 0,05$ como medida de significancia.

Mediante el análisis de Chi cuadrado se analizó si la población en estudio está en equilibrio de Hardy-Weinberg para los polimorfismos estudiados.

Consideraciones éticas

El estudio fue aprobado por el Comité de Ética de Investigación de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador y por el Comité de Investigación en Salud del HCAM, y cumple con los lineamientos de la declaración de Helsinki. Se obtuvo el consentimiento informado por escrito de todos los participantes.

RESULTADOS

La población de casos y controles estuvo compuesta por sujetos entre 40 y 70 años; sin embargo, la población de casos presentó mayor edad que la población de controles. Tanto en los casos como en los controles prevaleció el género masculino. En los casos hubo una mayor prevalencia de diabetes, hipertensión, dislipidemia y consumo de alcohol y tabaco (Tabla 2). Mediante el análisis de Chi cuadrado se obtuvieron valores que muestran que la población está en equilibrio de Hardy-Weinberg para los polimorfismos estudiados, excepto para el polimorfismo *IL-6 G-174C* ($X^2 = 1551,45$).

El genotipo *CC* del polimorfismo *IL1 β -511* se presentó con mayor frecuencia en los casos con cardiopatía isquémica (17,11%) al compararlo con los controles (11,84%), el OR fue de 1,53 (IC95%: 0,61-3,84; $p = 0,05$). También se encontró una diferencia significativa en el genotipo *GG* del polimorfismo *IL-6 -174*, que se presentó con mayor frecuencia en los casos con cardiopatía isquémica (73,68%) al compararlo con los controles (40,79%), con un OR de 4 (IC95%: 2,04-8,06; $p < 0,001$) (Tabla 3).

Tabla 1. Secuencia de primers y enzimas de restricción utilizadas para la detección de los polimorfismos en IL-1 e IL-6.

Polimorfismo	Identificación SNP	Secuencia del primer	Fragmento	Enzima	Tamaño del fragmento digerido (pb)			Referencia
					N	H	M	
IL-1 β C-511T	rs16944	FW: TGG CAT TGA TCT GGT TCA TC RV: GTT TAG GAA TCT TCC CAC TT	305 pb	Ava I	305	305, 190, 115	190,115	5
IL-1 β C+3953T	rs1143634	FW: GTT GTC ATC AGA CTT TGA CC RV: TTC AGT TCA TAT GGA CCA GA	249 pb	Taq I	249	249,135,114	135, 114	20
IL-6 G-174C	rs1800795	FW: TGA CTT CAG CTT TAC TCT TGT RV: CTG ATT GGA AAC CTT ATT AAG	198 pb	SfaNI	198	198, 140, 58	140,58	19
IL-6 G-572C	rs1800796	FW: GGAGACGCCTTGAA GTA ACTGC RV: GAGTTTCTCTGACT CCATCGCAG	163 pb	Mbil	163	163, 88, 75	88,75	21

FW: primer forward, RV: primer reverse, N: homocigoto normal, H: heterocigoto, M: homocigoto mutado.

Variables	Casos n = 76	Controles n = 76	Valor de p
Edad	64,7 \pm 12	57,5 \pm 12	b
Masculino	66 (86,84%)	52 (68,42%)	a
Femenino	10 (13,16%)	24 (31,58%)	a
HTA	44 (57,89%)	28 (36,84%)	b
DM 2	25 (32,89%)	12 (15,79%)	a
Dislipidemia	46 (60,53%)	18 (23,6%)	b
Alcohol	40 (52,63%)	18 (23,7%)	b
Tabaco	36 (47,37%)	23 (30,26%)	a

HTA: Hipertensión Arterial; DM 2: Diabetes mellitus 2; n: número de la población, a: p<0,05; b: p<0,01; NS: No significativo.

Tabla 2. Características clínicas de los casos con cardiopatía isquémica y los controles

Se realizó el análisis de regresión logística (Tabla 4) para determinar los predictores más importantes de cardiopatía isquémica. El genotipo *GG* del polimorfismo *IL-6 -174* se asoció con un incremento del riesgo de presentar cardiopatía isquémica en esta muestra de la población ecuatoriana. Esta asociación genotípica es independiente de otros factores de riesgo usuales, como el alcoholismo y la dislipidemia, que también presentaron una asociación significativa. No se halló ninguna asociación de riesgo significativa con los otros polimorfismos.

DISCUSIÓN

En nuestra población, las comorbilidades más frecuentemente asociadas a la cardiopatía isquémica fueron la hipertensión arterial (HTA), la dislipidemia y la

diabetes mellitus tipo 2 (DM 2), en concordancia con lo referido en poblaciones de Italia, Brasil y otros países de Latinoamérica. (4-6)

Respecto del análisis de los polimorfismos *IL-1 β C-511T* (Rs16944), *IL-1 β C+3953T* (Rs1143634), *IL-6 G-174C* (Rs1800795) e *IL-6 G-572C* (Rs1800796), los resultados determinaron que únicamente hubo relación estadísticamente significativa entre la presencia del genotipo *GG* del polimorfismo *IL-6 G-174C* (Rs1800795) y la manifestación de eventos coronarios (OR = 4,06; IC95%: 2,04-8,06; p < 0,001).

El genotipo *CC* del polimorfismo *IL-1 β C-511T* (rs16944) presentó un valor de p = 0,05 cuya significancia podría ser discutible.(7)

Un estudio en Brasil muestra que el genotipo *GG* se asocia con un riesgo incrementado de presentar

Tabla 3. Frecuencias genotípicas de los polimorfismos IL-1 β C-511T, IL-1 β C+3953T, IL-6 G-174C e IL-6 G-572C en los casos con cardiopatía isquémica y los controles.

Genotipos	Casos n = 76	Controles n = 76	Valor de p	OR (IC al 95%)
IL-1B C-511T				
TT	33 (43,42%)	48 (63,16%)	NS	0,47 (0,24-0,90)
TC	30 (39,40%)	19 (25%)	NS	1,95 (0,97-3,91)
CC	13 (17,11%)	9 (11,84%)	NS	1,53 (0,61-3,84)
TT+TC vs CC		NS	0,65 (0,26-1,62)	
TT vs TC+CC		a	0,44 (0,23-0,85)	
IL-1B C-3953T				
TT	0 (0%)	4 (5,26%)	a	1,05 (1,00-1,11)
TC	14 (18,42%)	11 (14,47%)	NS	1,33 (0,56-3,16)
CC	62 (81,58%)	61 (80,26%)	NS	1 (0,44-2,27)
TT+TC vs CC		NS	0,92 (0,48-2,06)	
TT vs TC+CC		a	0,00 (0,00-1,09)	
IL-6 G-174C				
CC	5 (6,58%)	32 (42,11%)	b	0,09 (0,03-0,26)
GC	15 (19,74%)	13 (17,11%)	NS	1,19 (0,52-2,71)
GG	56 (73,68%)	31 (40,79%)	b	4,06 (2,04-8,06)
CC+GC vs GG		b	0,24 (0,12-0,48)	
CC vs GC+GG		b	0,09 (0,03-0,26)	
IL-6 G-572C				
CC	12 (15,79%)	18 (23,68%)	NS	0,6 (0,26-1,36)
GC	31 (40,79%)	31 (40,79%)	NS	1 (0,52-1,91)
GG	33 (43,42%)	27 (35,53%)	NS	1,39 (0,72-2,67)
CC+GC vs GG		NS	0,71 (0,37-1,37)	
CC vs GC+GG		NS	0,60 (0,26-1,36)	

a: p < 0,05; b: p < 0,01; NS: No Significativo; n = número de la población

Tabla 4. Regresión logística para el riesgo de presentar cardiopatía isquémica

Variable	B	Error estándar	Wald	OR	IC 95%	Valor de p
Alcohol	1,098	0,495	4,931	3,58	1,78-7,17	a
Tabaco	0,750	0,506	2,200	2,07	1,06-4,03	NS
HTA	0,475	0,441	1,159	2,35	1,22/4,55	NS
DM2	0,624	0,499	1,569	2,61	1,19-5,70	NS
Dislipidemia	1,423	0,443	10,299	4,94	2,45-9,95	b
IL6 -174 GG	0,380	0,529	0,517	4,065	2,04-8,06	b

IL6-174GG VS GC+CC; HTA: Hipertensión arterial; DM 2: Diabetes mellitus 2; a: p < 0,05; b: p < 0,01; NS: No Significativo

enfermedad coronaria (OR = 2,037; p = 0,028). (8) En ese estudio, la distribución genotípica mostró una frecuencia de presentación del 69,6% en los casos contra un 60% en la población control. Estos resultados concuerdan con lo observado en nuestra investigación, donde la frecuencia para este genotipo en los casos fue del 73,68% y en los controles del 40,79%.

La explicación de este hecho se basa en que la interleucina 6 es una citocina pro-inflamatoria, por ende, los portadores de polimorfismos en su secuencia codificante tienen una susceptibilidad incre-

mentada para el desarrollo de enfermedad isquémica cardíaca. (9) Se considera que la IL-6 promueve el camino de la aterosclerosis.

En una muestra de 106 pacientes turcos con síndrome coronario agudo (SCA), Ozdemir et al. hallaron una frecuencia del 82% para el homocigoto GG. Además, en los pacientes que presentaron el polimorfismo IL-6 G-174C, el 31% desarrollaron lesión multivaso vs. el 8% que se manifestó con lesión única durante la angiografía coronaria (p < 0,05). En esa investigación se demostró una relación entre el po-

limorfismo y la gravedad del compromiso coronario. Aquellos pacientes con el genotipo *GG* presentaron un mayor tiempo de hospitalización y complicaciones más graves a causa de una titulación plasmática superior de los valores de IL-6. (10)

Diversas investigaciones han buscado correlacionar los valores de IL-6 y la gravedad de la patología coronaria, bajo la suposición de que los niveles séricos de IL-6 son superiores conforme el compromiso vascular aumenta. Deliarqyris et al. muestran que la IL-6 es producida en la circulación coronaria de los pacientes con angina inestable, pero no en los pacientes con angina estable. (11) Un estudio realizado en Turquía describe niveles superiores de IL-6 y proteína C reactiva en pacientes que desarrollaron un infarto agudo de miocardio en comparación con quienes presentaron una cardiopatía isquémica estable. (10) Se ha demostrado que los niveles plasmáticos de IL-6 son superiores en pacientes portadores del genotipo *GG* del polimorfismo *IL-6 G-174C*. (12-14)

En relación con el polimorfismo *IL-6 G-174C*, nuestros resultados concuerdan con los hallazgos de otros investigadores (6,8,12,13,15); sin embargo, vale la pena mencionar que otros estudios han realizado una asociación del genotipo *CC* con el riesgo de enfermedad cardiovascular, en lugar de encontrarla con el genotipo *GG*. (16-18) Como menciona M. Libra, “este conflicto de resultados sugiere que la relación del polimorfismo *IL-6 G-174C* con el desarrollo de enfermedades cardiovasculares es compleja”. (19)

CONCLUSIONES

En el grupo de pacientes estudiados, la presencia del genotipo *GG* del polimorfismo *IL-6 G-174C* confiere un riesgo 4 veces superior de desarrollar cardiopatía isquémica. Consideramos necesario extender la investigación a una muestra más amplia y diversa, que permita generalizar los resultados a toda la población del Ecuador.

Declaración de conflicto de intereses

Los autores declaran que no poseen conflicto de intereses.

(Véanse formularios de conflicto de intereses de los autores en la web / Material suplementario).

BIBLIOGRAFÍA

- Tarragó Amaya E, Soca PE, Cruz Lage LA, Lozano YS. Factores de riesgo y prevención de la cardiopatía isquémica. *CCM* 2012;16(2).
- García-Moll X, Kaski JC. Cardiopatía isquémica: marcadores de inflamación y riesgo cardiovascular. *Rev Esp Cardiol* 2015;52:990-1003. <http://doi.org/czff>
- Navarro-López F. Bases genéticas de la enfermedad coronaria. *Rev Esp Cardiol* 2002;55:413-31. <http://doi.org/czfg>
- Schargrodsky H, Hernández-Hernández R, Champagne BM, Silva H, Vinuesa R, Silva Ayçaguer LC, et al; CARMELA Study Investigators. CARMELA: assessment of cardiovascular risk in seven Latin American cities. *Am J Med* 2008;121:58-65. <http://doi.org/db4rmz>
- Vohnout B, Castelnovo A, Trotta R, D'orazio A, Panniteri G, Montali A, et al. Interleukin-1 gene cluster polymorphisms and risk of coronary artery disease. *Haematologica* 2003;88:54-60.
- Lima-Neto LG, Hirata RD, Luchessi AD, Silbiger VN, Stephano MA, Sampaio MF, et al. CD14 and IL6 polymorphisms are associated with a pro-atherogenic profile in young adults with acute myocardial infarction. *J Thromb Thrombolysis* 2013;36:332-40. <http://doi.org/f492kb>
- Mendoza C. El Valor P en Epidemiología. *Rev Chil Salud Pública* 2006;10:47-51.
- Rios DL, Cerqueira CC, Bonfim-Silva R, Araújo LJ, Pereira JF, Gadelha SR, et al. Interleukin-1 beta and interleukin-6 gene polymorphism associations with angiographically assessed coronary artery disease in Brazilians. *Cytokine* 2010;50:292-6. <http://doi.org/chr63k>
- Petrola CG, Naveda R, Chacón MR, Petrola I, Flores M, Pacheco M. Interleucina 6 en pacientes con cardiopatía isquémica / Serum levels of interleukin 6 in patients with a diagnosis of ischemic cardiopathy. *Salus* 2005;9:12-5.
- Ozdemir O, Gundogdu F, Karakelleoglu S, Sevimli S, Pirim I, Acikel M, et al. (2008). Comparison of serum levels of inflammatory markers and allelic variant of interleukin-6 in patients with acute coronary syndrome and stable angina pectoris. *Coron Artery Dis* 2008;19:15-19. <http://doi.org/fb64v4>
- Deliarqyris E, Raymond R, Theoharides T, Boucherb W, Tate D, Dehmer G. Sites of interleukin-6 release in patients with acute coronary syndromes and in patients with congestive heart failure. *Am J Cardiol* 2000;86:913-8. <http://doi.org/ctmngs>
- Fishman GI, Chugh SS, Dimarco JP, Albert CM, Anderson ME, Bonow RO, et al. Sudden cardiac death prediction and prevention: report from a National Heart, Lung, and Blood Institute and Heart Rhythm Society Workshop. *Circulation* 2010;122:2335-48. <http://doi.org/d73rg3>
- Sudomoina MA, Sukhinina TS, Barsova RM, Favorov AV, Shakhnovich RM, Titov BV, et al. Complex analysis of association of inflammation genes with myocardial infarction. *Mol Biol (Mosk)* 2010;44:463-71. <http://doi.org/bt32xx>
- Kofler S, Nickel T, Weis M. Role of cytokines in cardiovascular diseases: a focus on endothelial responses to inflammation. *Clin Sci (Lond)* 2005;108:205-13. <http://doi.org/d7vmg8>
- Giacconi R, Cipriano C, Albanese F, Boccoli G, Saba V, Olivieri F, et al. The -174G/C polymorphism of IL-6 is useful to screen old subjects at risk for atherosclerosis or to reach successful ageing. *Exp Gerontol* 2004;39:621-8. <http://doi.org/cq6f73>
- Nauck M, Winkelmann BR, Hoffmann MM, Böhm BO, Wieland H, März W. The interleukin-6 G (-174)C promoter polymorphism in the LURIC cohort: no association with plasma interleukin-6, coronary artery disease, and myocardial infarction. *J Mol Med (Berl)* 2002;80:507-13. <http://doi.org/ccv964>
- Georges JL1, Loukaci V, Poirier O, Evans A, Luc G, Arveiler D, et al. Interleukin-6 gene polymorphisms and susceptibility to myocardial infarction: the ECTIM study. *Etude Cas-Témoin de l'Infarctus du Myocarde*. *J Mol Med (Berl)* 2001;79:300-5. <http://doi.org/bzgf9b>
- Humphries SE, Luong LA, Ogg MS, Hawe E, Miller GJ. The interleukin-6 -174 G/C promoter polymorphism is associated with risk of coronary heart disease and systolic blood pressure in healthy men. *Eur Heart J* 2001;22:2243-52.
- Libra M, Signorelli SS, Bevelacqua Y, Navolanic PM, Bevelacqua V, Polesel J, et al. Analysis of G(-174)C IL-6 polymorphism and plasma concentrations of inflammatory markers in patients with type 2 diabetes and peripheral arterial disease. *J Clin Pathol* 2006;59:211-5. <http://doi.org/cpswkq>