

**GENOTIPIFICACIÓN DE POLIMORFISMOS EN LOS GENES DE REPARACIÓN  
XRCC1, APE1, Y SU ASOCIACIÓN CON ADENOCARCINOMA GÁSTRICO EN  
UNA POBLACIÓN DEL SUROCCIDENTE COLOMBIANO**

**NADIA NUBIA MACA MUÑOZ  
ASTRID LORENA URBANO CANO**

**UNIVERSIDAD DEL CAUCA  
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN  
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA  
POPAYÁN  
2006**

**GENOTIPIFICACIÓN DE POLIMORFISMOS EN LOS GENES DE REPARACIÓN  
XRCC1, APE1, Y SU ASOCIACIÓN CON ADENOCARCINOMA GÁSTRICO EN  
UNA POBLACIÓN DEL SUROCCIDENTE COLOMBIANO**

**NADIA NUBIA MACA MUÑOZ  
ASTRID LORENA URBANO CANO**  
Trabajo de grado para optar al título de Bióloga

**Director  
Carlos Hernán Sierra, Ph.D.**

**Asesor  
Sulma Muñoz, Msc.  
Facultad Ciencias de la Salud  
Departamento de Ciencias Fisiológicas  
Laboratorio de Genética Humana**

**UNIVERSIDAD DEL CAUCA  
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN  
DEPARTAMENTO BIOLOGÍA  
POPAYÁN  
2006**

**Nota de aceptación:**

---

---

---

---

---

---

---

Luz Stella Hoyos, MSc.  
Jurado.

---

Daniel Delgado, MD.  
Jurado.

---

Carlos Hernán Sierra, Ph.D.  
Director.

Popayán, Febrero de 2006.

*Con todo nuestro amor...*

*A Dios queremos agradecerle de la manera más especial, por ser el gestor de nuestras vidas y ser la inspiración de nuestros triunfos, por guiar nuestro camino con la luz de su Santo Espíritu y a los miembros de nuestras familias. Aurelio Hernán Urbano López, María Nohelia Cano Muñoz, Rina Mónica Urbano Cano, Ana Judith Muñoz Rosero, María Esmeralda Muñoz Rosero, Carlos Leonardo Muñoz Rosero, Rosa Elvira Rosero Orozco, Karolina Maca Muñoz y Héctor Alberto Maca González, quienes nos han brindado todo su amor y dedicación en el transcurso de nuestras vidas, nos han apoyado incondicionalmente durante este periodo académico y por su inagotable esfuerzo para brindarnos una educación integral.*

## **AGRADECIMIENTOS**

A todos los miembros del grupo de Investigación en Genética Humana Aplicada (GIGHA) por contribuir con nuestra formación. Su tutoría nos ha permitido crecer en el ámbito académico y laboral con sus continuas enseñanzas. A la Msc. Sulma Muñoz Benitez por brindarnos su confianza y ofrecernos su apoyo abriéndonos las puertas del laboratorio donde realizamos nuestro trabajo de grado, a la Msc. Patricia Acosta y la Bióloga Yexania Arboleda y a las docentes Jannet Rodríguez y Rosa Álvarez por su continua colaboración y aportes con su experiencia investigativa, a la bacterióloga Liz Bety Garcia por aportar experiencia profesional. a la Dra Carolina Cárdenas por el manejo de las muestras de custodia y a la Auxiliar Mélida Lemos por su colaboración en el suministro de materiales y reactivos.

A los Gastroenterólogos Juan Carlos Adrada, Daniel Delgado, Fredy Calambas y Jesús Díaz, a las Enfermeras Dalila Bravo y Socorro Gómez, a la Secretaria Rosario Rosero; por su colaboración en la colección de muestras, a la Compañía de Patólogos del Cauca y a Patología del Hospital San José por el diagnóstico de confirmación Histopatológica de los pacientes con cáncer gástrico, a los directivos del Hospital Universitario San José y el Hospital Susana López de Valencia en la ciudad de Popayán y de los hospitales municipales de el Bordo, Timbio, Tambo y Piendamó, a cada uno de los participantes voluntarios de la investigación por su colaboración y apoyo en la realización de este proyecto.

Con mucho cariño agradecemos a todos nuestros profesores y a nuestros compañeros que compartieron a lo largo de nuestra carrera académica muchos momentos que hoy se han convertido en una gran amistad. De igual manera, agradecemos a las entidades que permitieron que se llevara a cabo nuestro trabajo de grado. A Colciencias por el financiamiento del proyecto de Investigación No.1113-04-13050. A la Universidad del Cauca por su formación académica y profesional.

A todos ellos nuestro afecto y sincero agradecimiento.

## RESUMEN

En Colombia el cáncer gástrico (CG) es la primera causa de muerte por cáncer en hombres y la tercera en mujeres según el Instituto Nacional de Cancerología. El departamento del Cauca es una de las regiones con mayor número de casos de CG, siendo esta patología un problema de salud pública importante. Estudios en CG han revelado la interacción entre factores sociodemográficos, ambientales y genéticos y su relación con el desarrollo de CG. La capacidad de reparación ha sido sugerida como un factor de riesgo para muchos tipos de cáncer. Las enzimas de reparación XRCC1 y APE1 participan en la senda de reparación por excisión de bases (BER) e interactúan físicamente, cumpliendo un rol importante en el mantenimiento de la integridad del genoma humano frente a agentes potencialmente carcinogénicos.

**Objetivo:** Establecer la asociación entre la presencia de los polimorfismos de los genes de reparación XRCC1 y APE1 con CG en una población Caucana.

**Metodología:** Se realizó un estudio caso-control, incluyendo 97 casos con diagnóstico confirmado de CG y 98 controles sin ningún antecedente de enfermedad del tracto gastrointestinal. Los casos y controles fueron pareados según procedencia, sexo y edad ( $\pm 5$  años). Los procedimientos a seguir fueron: 1. Consentimiento voluntario, 2. Colección de muestra de sangre para extracción de ADN, 3. Caracterización de polimorfismos genéticos mediante técnicas de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y polimorfismo de la longitud de fragmentos de restricción (RFLP), y 4. Análisis estadístico para determinar interacción y riesgo usando el software SPSS para Windows.

**Resultados:** Al comparar la distribución de los polimorfismos genéticos entre los casos y controles no se encontraron diferencias significativas: APE1 Asp148Glu  $p = 0,397$ , XRCC1 Arg194Trp  $p = 0,387$  y XRCC1 Arg399Gln  $p = 0,083$ . Sin embargo, al realizar el análisis de regresión logística para establecer el riesgo asociado a CG, el genotipo homocigoto Gln/Gln de XRCC1 mostró un OR crudo de 2,8 (IC95% = 1,11-7,00) y un OR ajustado de 3,0 (IC95% = 1,14-7,70).

**Conclusiones:** Estos resultados indican que el genotipo homocigoto Gln/Gln del gen XRCC1 podría conferir susceptibilidad genética para el desarrollo de CG en la población caucana. Es necesario continuar con investigaciones para establecer las posibles interacciones entre este polimorfismo y otros factores de riesgo para CG. Proyecto financiado por Colciencias (No. 1113-04-13050).

## CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN.....	10
1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	12
2. JUSTIFICACIÓN.....	14
3. HIPÓTESIS.....	15
4. OBJETIVOS.....	16
4.1 OBJETIVO GENERAL.....	16
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	16
5. MARCO TEÓRICO .....	17
5.1 CÁNCER GÁSTRICO.....	17
5.2 FACTORES DE RIESGO .....	17
5.2.1 Factores ambientales.....	18
5.2.2 <i>Helicobacter pylori</i> .....	18
5.2.3 Factores genéticos .....	19
5.3 EPIDEMIOLOGÍA MOLECULAR .....	19
5.4 BASES MOLECULARES DEL CÁNCER .....	20
5.5 MECANISMOS DE REPARACIÓN .....	21
5.6 REPARACIÓN POR EXCISIÓN DE BASES (BER).....	22
5.6.1 XRCC1 .....	23
5.6.2 APE1 .....	25
6. METODOLOGÍA.....	28
6.1 DISEÑO EXPERIMENTAL Y TIPO DE ESTUDIO .....	28
6.2 POBLACIÓN OBJETO DE ESTUDIO .....	28
6.3 CRITERIOS DE SELECCIÓN .....	28
6.3.1 Criterios de inclusión.....	29
6.3.2 Criterios de exclusión.....	29
6.4 COLECCIÓN DE INFORMACIÓN Y TOMA DE MUESTRAS .....	29
6.5 TÉCNICAS DE LABORATORIO .....	29
6.5.1 Extracción de ADN .....	30
6.5.2 Reacción en cadena de la polimerasa (PCR).....	30
6.5.3 Protocolo de PCR para XRCC1 (Arg194Trp) .....	30
6.5.4 Protocolo de PCR para XRCC1 (Arg399Gln) .....	31
6.5.5 Protocolo de PCR para APE1 (Asp148Glu).....	32
6.6 PROCESAMIENTO DE DATOS Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	33

6.7 CONSIDERACIONES ÉTICAS .....	34
7. RESULTADOS .....	35
7.1 CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO .....	35
7.2 ORIGEN Y TRATAMIENTO DE AGUAS Y EXCRETAS.....	36
7.3 ESTILO DE VIDA DE LA POBLACIÓN .....	37
7.4 HÁBITOS ALIMENTICIOS .....	37
7.5 GENOTIPO Y RIESGO ASOCIADO A CÁNCER GÁSTRICO .....	39
8. DISCUSIÓN.....	40
8.1 SOCIODEMOGRAFÍA.....	40
8.2 TRATAMIENTO DE AGUAS .....	41
8.3 ESTILO DE VIDA .....	41
8.4 HÁBITOS ALIMENTICIOS .....	41
8.5 GENES DE REPARACIÓN Y CÁNCER GÁSTRICO .....	42
9. CONCLUSIONES.....	45
BIBLIOGRAFÍA.....	46
ANEXOS.....	52



## LISTA DE TABLAS

	<b>Pág.</b>
Tabla 1. Frecuencia de XRCC1 y APE1 en otras poblaciones. ....	27
Tabla 2. Características sociodemográficas de la población de estudio.....	35
Tabla 3. Zona de procedencia de la población de estudio.....	36
Tabla 4. Origen y tratamiento de aguas y excretas.....	36
Tabla 5. Consumo de cigarrillo y bebidas alcohólicas. ....	37
Tabla 6. Hábitos alimenticios. ....	38
Tabla 7. Genotipo y riesgo asociado (OR) a cáncer gástrico.....	39

## LISTA DE FIGURAS

	<b>Pág.</b>
Figura 1. Mecanismos de Reparación de ADN .....	22
Figura 2. Participación de XRCC1 y APE1 en BER. ....	23
Figura 3. PCR para XRCC1 Arg194Trp. ....	24
Figura 4. PCR para XRCC1 Arg399Gln .....	25
Figura 5. PCR para APE1 Asp164Glu .....	26
Figura 6. Patrones de bandas del polimorfismo XRCC1 Arg194Trp.....	31
Figura 7. Patrones de bandas del polimorfismo XRCC1 Arg399Gln.....	32
Figura 8. Patrones de bandas del polimorfismo para APE1 Asp148Glu.....	33

## LISTA DE ANEXOS

	<b>Pág.</b>
Anexo A. Consentimiento informado.....	52
Anexo B. Encuesta.....	53

## INTRODUCCIÓN

A nivel mundial el cáncer gástrico (CG) es el cuarto cáncer más común (9.9%) y la segunda causa de muerte por cáncer (12.1%), después del cáncer de pulmón (Correa *et al.*, 2004). El CG afecta principalmente a países como Japón, China, Corea, el Este de Europa y países de Centro y Sur América (Kelley and Duggan, 2003). Colombia es uno de los países de mayor incidencia de CG, siendo la primera causa de muerte por cáncer en hombres y la tercera en mujeres (Instituto Nacional de Cancerología, 2001). Según la Dirección Departamental de Salud, el departamento del Cauca se encuentra dentro de las regiones de mayor incidencia de CG, donde éste es la primera causa de muerte por cáncer (datos no publicados).

La etiología del CG no es clara dado que son múltiples los factores que desempeñan un papel importante en la carcinogénesis, como son la dieta, el estilo de vida, agentes infecciosos como *Helicobacter pylori* y los factores genéticos (Shen *et al.*, 2004). Aproximadamente, el 90% de los casos de CG son adenocarcinomas y el 10% son linfomas y leiomiosarcomas. El tipo más frecuente es el adenocarcinoma de tipo intestinal, siendo más común en hombres, grupos de avanzada edad y regiones de alto riesgo (Kelley and Duggan, 2003).

Una nueva disciplina, que ha avanzado debido a los recientes avances tecnológicos en biología, es la epidemiología molecular. La epidemiología molecular es un esfuerzo multidisciplinario que incorpora genética molecular, biología celular, bioquímica y bioética en los estudios de epidemiología tradicional (Perera and Weinstein, 2000). Los estudios en epidemiología molecular permiten establecer la interacción entre factores ambientales y factores genéticos que determinan el desarrollo de enfermedades como el CG, mediante la inclusión de biomarcadores de exposición, efecto y susceptibilidad. La identificación de variantes genéticas que pueden modular las asociaciones entre exposición y enfermedad tienen el potencial de aclarar la relación de riesgo, a su vez permiten identificar grupos de la población que son más susceptibles a ciertas exposiciones (Furberg and Ambrosone, 2001). Entre los factores de riesgo que pueden alterar la expresión génica se encuentran los genes de alta penetrancia donde la incidencia de enfermedad en los individuos es cerca del 100%, y los genes de baja penetrancia, con un incremento de riesgo de enfermedad menor. Estos últimos incluyen polimorfismos en genes que codifican enzimas involucradas en el metabolismo de carcinógenos, mecanismos de reparación, control del ciclo celular e inmunidad, entre otros (Wild *et al.*, 2002). Actualmente, la investigación en

epidemiología molecular se ha focalizado sobre estos polimorfismos genéticos y su relación con el riesgo de cáncer (Furberg and Ambrosone, 2001).

Dada la gran incidencia del CG en el departamento del Cauca, es necesario realizar investigaciones haciendo uso de la epidemiología molecular; para explicar como se comportan los factores de riesgo que inducen susceptibilidad a CG en la población. El objetivo de este estudio es establecer la asociación entre factores sociodemográficos, ambientales y genéticos como inductores de CG en una población del Departamento del Cauca, teniendo como propósito la divulgación de los resultados por diferentes medios que conduzcan a nuevos lineamientos en las estrategias de promoción y prevención de las entidades de salud, para permitir la identificación temprana de la población en riesgo a CG.

## 1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Aunque en los últimos años se ha observado una disminución en la incidencia de cáncer gástrico (CG) en el mundo, aproximadamente 876.000 pacientes son diagnosticados con esta enfermedad y 649.000 mueren cada año (Correa, 2004). A su vez, se ha observado que la migración de grupos étnicos de países de alto riesgo a países de bajo riesgo mantiene en su primera generación la alta incidencia, mientras que las subsecuentes generaciones disminuyen el riesgo en su nuevo país (Raj *et al.*, 2003). En cuanto a la relación del CG con la edad y el sexo, es más frecuente en edades avanzadas y en hombres que en mujeres (Kelley and Duggan, 2003). Según la Agencia Internacional para la Investigación en Cáncer (IARC), la incidencia del CG tiene una marcada variación geográfica y de género (hombre vs. mujer) que se puede observar en datos de países como Japón 95 vs. 40, Corea 66 vs. 25, Costa Rica 51 vs. 23, China 48 vs. 21, Colombia (Cali) 33 vs. 19 y Estados Unidos 7 vs. 3 (Kelley and Duggan, 2003).

En Colombia, la Liga Nacional de Lucha contra el Cáncer ha registrado 6.000 nuevos casos de CG al año, siendo esta patología la principal causa de muerte por cáncer, con tasas de mortalidad de 16.11 por cada 100.000 habitantes para el sexo masculino y 11.53 por cada 100.000 para el sexo femenino. Las zonas con más alta incidencia son: Cauca, Nariño, Boyacá, Cundinamarca, Norte de Santander, Santander y Antioquia (Rodríguez *et al.*, 2000). En el Departamento del Cauca según la Dirección Departamental de Salud, el CG es la cuarta causa de mortalidad total y la primera causa de muerte por cáncer. Se encuentran reportes que indican que la mortalidad por CG en el Cauca ha incrementado sustancialmente, con tasas de mortalidad de 194 por cada 100.000 habitantes en 1992 a 232 por cada 100.000 habitantes en el 2003.

Diversos estudios han revelado la interacción de genes polimórficos del metabolismo y de la respuesta inmune que predisponen al cáncer. A nivel mundial existe un interés significativo por estudiar la relación de riesgo a cáncer con los genes asociados a mecanismos de reparación porque su alteración puede predisponer a las mutaciones del genoma y, por tanto, a la transformación neoplásica.

Las enzimas de reparación cumplen un rol importante porque mantienen la integridad del genoma humano frente a agentes potencialmente carcinogénicos. El gen de reparación de rayos x del grupo 1 de complementación cruzada (x-ray repair cross-complementing group 1, *XRCC1*) participa en la vía de reparación por

excisión de bases (BER) y codifica la proteína XRCC1, actúa cuando existe exposición endógena a productos reactivos de oxígeno, radiación ionizante y agentes alquilantes (Duell *et al.*, 2000). El gen endonucleasa apurínica/apirimídica (apurinic/apyrimidinic endonuclease, *APE1*) codifica la proteína APE1 (Izumi *et al.*, 2000). APE1 es una endonucleasa multifuncional que participa en la ruta de reparación por excisión de bases e interactúa físicamente con XRCC1 (Vidal *et al.*, 2001).

Por lo anterior se planteó la siguiente pregunta de investigación ¿Existe alguna asociación entre polimorfismos en los genes de reparación y el desarrollo de CG en una población del sur occidente colombiano?

## 2. JUSTIFICACIÓN

El departamento del Cauca es una de las zonas con mayor incidencia de cáncer gástrico (CG) en Colombia, actualmente no existen investigaciones en esta región, que permitan esclarecer la etiología de la enfermedad. El CG es una enfermedad multifactorial donde el ambiente y la predisposición genética participan de manera conjunta en el desarrollo de esta patología; por consiguiente, las investigaciones no pueden limitarse solo a evidencias epidemiológicas, sino también, es necesario conocer el papel de la susceptibilidad genética de la población haciendo uso de las herramientas en Epidemiología Molecular. Es decir, para establecer la patogénesis del CG, es preciso, conocer datos etiológicos, epidemiológicos, tipo de dieta, estilo de vida, factores ambientales y genéticos que influyen sobre la incidencia del CG en la población. Esto podría revelar consecuentemente los factores asociados a las diferentes incidencias reportadas en la población mundial.

El propósito de este estudio *epidemiológico molecular* es suministrar la identificación temprana de poblaciones en riesgo a CG, conociendo que las diferencias genéticas afectan la forma de responder ante los distintos agentes ambientales. Esta investigación tiene un impacto científico importante porque da a conocer las frecuencias de los polimorfismos en los genes de reparación XRCC1 y APE1 y su asociación de riesgo con CG en la población de estudio. La determinación de polimorfismos genéticos de reparación como influyentes del desarrollo de CG en la población caucana estudiada, podrá contribuir a un mejor entendimiento de la patogénesis de la enfermedad y por tanto generará un importante impacto para la investigación nacional.

Para el departamento del Cauca, este trabajo es de gran importancia porque los resultados indican los principales factores de riesgo sociodemográficos, dietéticos y genéticos que permitirá desarrollar estrategias de promoción y prevención para los habitantes de esta zona que proporcionen eventualmente la disminución de la incidencia de casos con CG en este Departamento.



### **3. HIPÓTESIS**

Algunos factores ambientales, comportamentales y la presencia de polimorfismos en los genes de reparación XRCC1 y APE1 en la población de estudio, está asociada con una mayor susceptibilidad para adquirir cáncer gástrico (CG) en comparación con el grupo control.

## **4. OBJETIVOS**

### **4.1 OBJETIVO GENERAL**

Establecer la asociación entre factores sociodemográficos, ambientales y genéticos para el desarrollo de cáncer gástrico (CG) en una población del Suroccidente colombiano.

### **4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Estandarizar técnicas moleculares de PCR (reacción en cadena de la polimerasa, electroforesis y RFLP (polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción) para genotipificar los genes de reparación XRCC1 y APE1.

Establecer las características de la población de estudio y cuáles de los factores ambientales y estilo de vida están asociados con CG.

Determinar la frecuencia de los polimorfismos en los genes de reparación (XRCC1 y APE1) y su asociación con el riesgo de desarrollar CG.

## **5. MARCO TEÓRICO**

### **5.1 CÁNCER GÁSTRICO**

El estomago es un órgano en forma de saco. La pared del estómago esta dividida en tres áreas importantes: el fondo, el cuerpo, y el antro. El cáncer gástrico (CG) es una malignidad que se presenta en cualquier parte del estómago, sin embargo, la mayoría de las neoplasias se presenta en el antro, la parte distal del estómago. A su vez se encuentra una gran cantidad de tumores en la parte proximal del estomago (unión esófago-gástrica) denominados CG del cardias gástrico (Shang and Pena, 2005).

Los tumores del estomago pueden ser malignos o benignos, están clasificados según su morfología e histopatología. Casi todos los tumores malignos del estomago son de origen epitelial y pueden ser clasificados como adenocarcinomas. Los carcinomas gástricos descritos por Lauren en 1965 están divididos en dos tipos, intestinal y difuso (Lauren, 1965). El tipo intestinal o bien diferenciado esta formado por células con núcleos grandes e irregulares. Estas células conservan suficiente cohesión celular seguida de la formación de estructuras tubulares a manera glandular. El tipo difuso o indiferenciado contiene pequeñas células solitarias o pequeños grupos celulares. Este tipo puede llevar a metástasis y generalmente muestra un curso clínico más agresivo (Kelley and Duggan, 2003; Stadlander and Waterbor, 1999).

El CG intestinal es el resultado final de un proceso que comienza con gastritis crónica, avanza a metaplasia intestinal y displasia, este tipo es más común en personas mayores de 50 años. En el CG de tipo difuso no se han identificado lesiones histológicas precursoras, es más común en pacientes jóvenes, mujeres menores de 50 años y personas con sangre tipo A (Nardone, 2003; Werner *et al.*, 2001). Estudios clínicos epidemiológicos muestran que el tipo intestinal es mas frecuente en países con altas incidencias de CG, mientras que la incidencia del tipo difuso es similar en la mayoría de poblaciones (Stadlander and Waterbor, 1999).

### **5.2 FACTORES DE RIESGO**

El cáncer gástrico (CG) resulta de la interacción de factores relacionados entre si como la dieta, el ambiente, susceptibilidad genética individual y la infección con

*Helicobacter pylori*. Las dietas ricas en sal, alimentos preservados con altos contenidos de nitritos y componentes N-nitroso y la dieta escasa en vegetales y frutas frescas (antioxidantes vitaminas C y E) están asociados con un incremento del riesgo de CG (Sepulveda and Graham, 2002), mientras que factores de riesgo clásico como el humo del cigarrillo y el consumo de alcohol muestran resultados inconsistentes (Correa *et al.*, 2004; Hohenberger and Gretschel, 2003).

### **5.2.1 Factores ambientales**

Los factores ambientales asociados a CG han sido fácilmente identificados. Los factores etiológicos mejor conocidos son: la infección con *Helicobacter pylori*, una dieta alta en sal y alimentos preservados o ahumados, bajo consumo de frutas frescas y vegetales, bajo estatus socioeconómico e inadecuadas condiciones higiénicas (Crookes, 2002; Raj *et al.*, 2003). Variaciones en la incidencia y mortalidad de CG sugieren que la dieta es un factor etiológico importante de riesgo para CG (Kelley and Duggan, 2003), por ejemplo el alto consumo de fibra  $\beta$ -caroteno, folato, y vitaminas C y B6 en los alimentos ha sido asociada con una reducción en el riesgo de CG (Mayne and Navarro, 2002) mientras que compuestos N-nitrosos formados en el aparato gastrointestinal superior encontrados en alimentos preservados se piensa, son mutágenos responsables de CG, proceso acelerado por la carencia de los micronutrientes antes mencionados, una dieta alta en sal, o infección con *Helicobacter pylori*, lo cual señala que estos factores parecen actuar sobre una ruta patogénica común (Raj *et al.*, 2003).

### **5.2.2 *Helicobacter pylori***

*Helicobacter pylori* es un bacilo gram negativo que habita la mucosa del estomago humano, detectado por primera vez en 1983 por Marshall y Warren (Marshall BJ, 1983), produce dióxido de carbono y amonio, desde urea por acción de la ureasa. El amonio eleva el pH de la mucosa, de esta manera *Helicobacter pylori* puede habitar en ella (Kikuchi, 2002).

En 1994, la Agencia Internacional de Investigación del Cáncer (IARC) clasificó a *Helicobacter pylori* como un carcinógeno para humanos. La evidencia de la asociación entre *Helicobacter pylori* y CG es soportada en estudios ecológicos, caso-control y estudios de cohorte prospectivos (Kelley and Duggan, 2003).

La infección con *Helicobacter pylori* es un factor importante en el proceso biológico de carcinoma gástrico (Pajares, 2001). La adquisición de esta bacteria esta

relacionada con condiciones sanitarias y suministro de agua (Kikuchi, 2002). La asociación de *Helicobacter pylori* y CG es equivalente, tanto, para adenocarcinoma de tipo difuso como para adenocarcinoma de tipo intestinal (McCull and El-Omar, 2002; Van Zanten *et al.*, 1999). El mecanismo por el cual *Helicobacter pylori* induce CG es el desarrollo y progresión de la gastritis crónica, la cual persiste en casi todos los individuos infectados. La gastritis causada por *Helicobacter pylori* puede progresar en el tiempo, desde una forma inicial no atrófica superficial a formas mas severas, incluyendo gastritis atrófica severa con metaplasia intestinal. La gastritis crónica esta presente en la gran mayoría de casos de CG y esta asociada con el incremento de riesgo. El tipo intestinal esta estrechamente asociado con gastritis atrófica severa mientras el tipo difuso es más común en gastritis no atrófica (Kelley and Duggan, 2003; Sepulveda and Graham, 2002). *Helicobacter pylori* puede ser encontrado en el antro, cuerpo y cardias gástrico en la mayoría de individuos. El antro es mas afectado que el cuerpo gástrico y por este motivo la gastritis en el cuerpo es menos frecuente que en el antro (Van Zanten *et al.*, 1999).

### **5.2.3 Factores genéticos**

El cáncer gástrico (CG) es el resultado final de una serie de mutaciones y transformaciones celulares que empiezan en las primeras décadas de la vida (Raj *et al.*, 2003). Estudios en genética molecular de las últimas décadas han demostrado claramente que múltiples alteraciones genéticas son responsables del desarrollo y progresión del cáncer gástrico (Werner *et al.*, 2001). Se han identificado alteraciones en genes específicos que participan en importantes rutas genéticas que incluyen genes supresores de tumor, oncogenes, genes controladores del ciclo celular, apoptosis y reparación de ADN que conducen a CG (Katz and Kaestner, 2002; Scartozzi *et al.*, 2004). Adicionalmente, se han llevado a cabo diferentes estudios que determinan el papel de factores hereditarios en el desarrollo de CG, entre estos se incluyen reportes de pedigrees familiares, estudios en gemelos y en tipos de sangre, que indican que el tipo de sangre A esta asociado con una mayor frecuencia de CG que los otros grupos sanguíneos (Stadtlander and Waterbor, 1999).

## **5.3 EPIDEMIOLOGÍA MOLECULAR**

La epidemiología molecular se refiere al uso de biomarcadores de biología molecular en los estudios epidemiológicos tradicionales. En epidemiología molecular, el epidemiólogo investiga los eventos y mecanismos que intervienen entre la exposición, la ocurrencia y la progresión de la enfermedad (Chen and Hunter, 2005), permitiendo establecer la interacción entre factores ambientales y factores genéticos que determinan el desarrollo de enfermedades como el cáncer,

mediante la inclusión de biomarcadores de exposición, efecto y de susceptibilidad (Furberg and Ambrosone, 2001). Los biomarcadores usados en la investigación Epidemiológica Molecular del cáncer son: marcadores de exposición (ej: presencia de virus causantes del cáncer), marcadores de dosis, marcadores de dosis interna (ej: aductos de ADN formados después de la activación metabólica de ciertos carcinógenos, tales como aflatoxina), marcadores de dosis biológicamente efectiva (ej: mutaciones en p53 somático que pueden indicar exposición a un carcinógeno específico), marcadores de efecto (ej: aberraciones cromosómicas), marcadores de susceptibilidad (polimorfismos genéticos), marcadores de subtipo de cáncer (receptores de estrógenos y progesterona en cáncer de seno) y marcadores de pronóstico (polimorfismos metabólicos en genes metabolizadores de drogas) (Chen and Hunter, 2005).

La mayor contribución de la epidemiología molecular ha sido proporcionar el entendimiento de la variación interindividual de riesgo a cáncer humano y las complejas interacciones entre factores ambientales y factores de susceptibilidad, heredados y adquiridos en el proceso gradual de carcinogénesis (Perera and Weinstein, 2000).

#### **5.4 BASES MOLECULARES DEL CÁNCER**

El desarrollo del cáncer no solo puede atribuirse a la mutación de un gen específico, a nivel celular el cáncer es una enfermedad genética. Existen procesos biológicos en cada ser humano, que controlan el crecimiento y la diferenciación celular. En el inicio de la carcinogénesis se encuentra una lesión genética que puede ser heredada o ser adquirida por la acción de agentes ambientales tales como sustancias químicas, radiación e infecciones con virus. Los receptores principales de lesiones genéticas corresponden a cuatro clases de genes reguladores del ciclo celular, estos incluyen a los protooncogenes que estimulan el crecimiento, los genes supresores del cáncer que inhiben el crecimiento, los genes que regulan la reparación del ADN y los genes que regulan la muerte celular programada o apoptosis (Weinberg, 1996).

Los protooncogenes pueden transformarse en oncogenes carcinogénicos y dirigir una multiplicación celular desenfrenada. Las mutaciones pueden hacer que el protooncogen produzca un exceso de proteína estimuladora del crecimiento celular. Los genes supresores de tumores, por el contrario, contribuyen al cáncer cuando las mutaciones los silencian. La carencia de proteína supresora funcional activa el crecimiento desmesurado. Para que un tumor se desarrolle, deben ocurrir mutaciones en más de media docena de genes que controlan el crecimiento de las células. La existencia de formas alteradas en otras clases de genes pueden participar también en la creación de un estado maligno, permitiendo específicamente

que una célula que prolifera se torne invasiva y se disemine por todo el cuerpo (metástasis) (Weinberg, 1996).

La apoptosis o muerte celular programada ocurre cuando alguno de los sistemas de control se desregula. De esta manera un daño en el ADN puede poner en marcha la apoptosis celular. Investigaciones realizadas previamente, indican que la aparición de un oncogen o la inactivación de genes supresores de tumores pueden también inducir esta respuesta, de esta manera la apoptosis es un mecanismo de defensa celular. Por lo tanto los tumores que aparecen en los tejidos se producirán a partir de las células genéticamente alteradas que logran evadir el mecanismo de apoptosis (Weinberg, 1996).

Los "genes reparadores de ADN" son la tercera clase de genes implicados en el cáncer. Estos genes codifican proteínas cuya función normal es corregir errores que surgen cuando las células duplican su ADN antes de dividirse. Las mutaciones en los genes reparadores de ADN pueden conducir al fracaso en la reparación de ADN, lo cual a su vez permite mutaciones subsecuentes en los genes supresores de tumor y que los protooncogenes se acumulen.

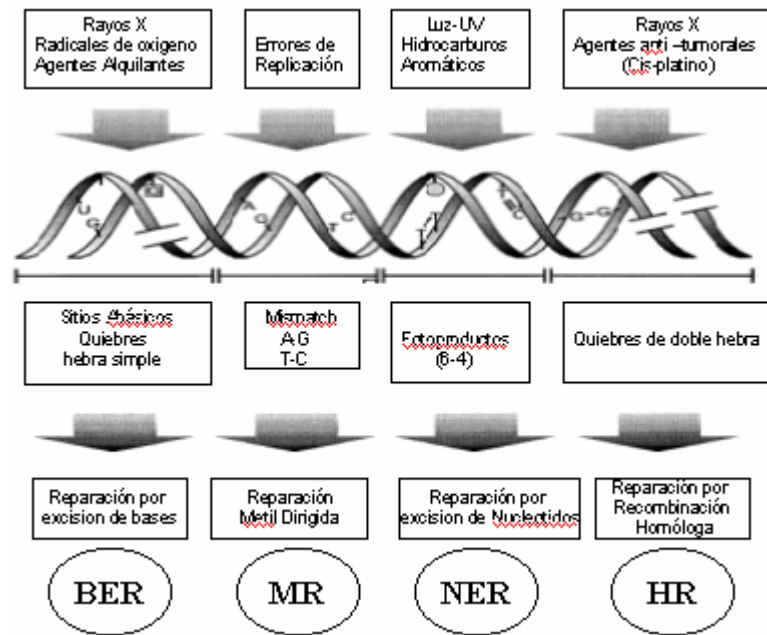
## **5.5 MECANISMOS DE REPARACIÓN**

Los mecanismos de reparación de ADN participan en el mantenimiento de la integridad del genoma en respuesta a mutaciones, errores de replicación y efectos ambientales, se estima que cada célula humana pierde diariamente más de 10000 bases por deterioro espontáneo del ADN a temperatura corporal. Las células replican su ADN con una cierta probabilidad de error (Demokan *et al.*, 2005). Existen diferentes procesos de reparación que actúan en determinados daños celulares como se indica en la Figura 1:

1. Cuando se presenta un sitio abásico o un quiebre de hebra sencilla causado por la acción de los Rayos X, los Radicales Libres de Oxígeno o Agentes Alquilantes, actúa el mecanismo de reparación por excisión de bases (BER), cuya acción es dirigida por Glicosilasas, Endonucleasas, Polimerasas y Ligasas (Figura 1).
2. Los Fotoproductos (6,4) causados por el efecto de la Luz Ultravioleta (UV) o por los Hidrocarburos Aromáticos son corregidos mediante el proceso de reparación por excisión de nucleótidos (NER) dirigido por endonucleasas específicas que reparan el daño (Figura 1).

3. Durante el proceso de la Replicación se pueden presentar apareamientos erróneos que pueden ser corregidos mediante el proceso de Reparación Metil-Dirigida (Mismatch, MR) (Figura 1).
4. El proceso de Reparación por Recombinación Homóloga que ocasiona quiebres de doble hebra ocurre cuando el daño al ADN es ocasionado por efectos de los Rayos X, Agentes anti- Tumorales entre otros, cuya reparación se realiza utilizando la información de la hebra parental (HR) (Figura 1).

**Figura 1. Mecanismos de Reparación de ADN**



Fuente: (Hoeijmakers, 2001).

## 5.6 REPARACIÓN POR EXCISIÓN DE BASES (BER)

El tipo más común de daño causado al ADN es el daño de bases nitrogenadas, el cual ocurre en una proporción de varios centenares de pares de bases por cada célula al día en humanos. Inicialmente este daño es ocasionado por la acción del metabolismo endógeno y procesos inmunes más que por toxinas ambientales, exceptuando el daño causado por la luz ultravioleta (UV) de la luz solar a la piel y el daño oxidativo ocasionado a los pulmones y a la sangre por el humo del cigarrillo (Huffman *et al.*, 2005). Este tipo de daño es corregido por la vía de reparación por excisión de bases de ADN, (BER), el cual es un mecanismo de reparación post replicativo que reconoce cualquier lesión que cree una distorsión importante en la doble hélice de ADN. Esta reparación se realiza mediante una secuencia de pasos catalizados por enzimas. Se produce un corte endonucleótido

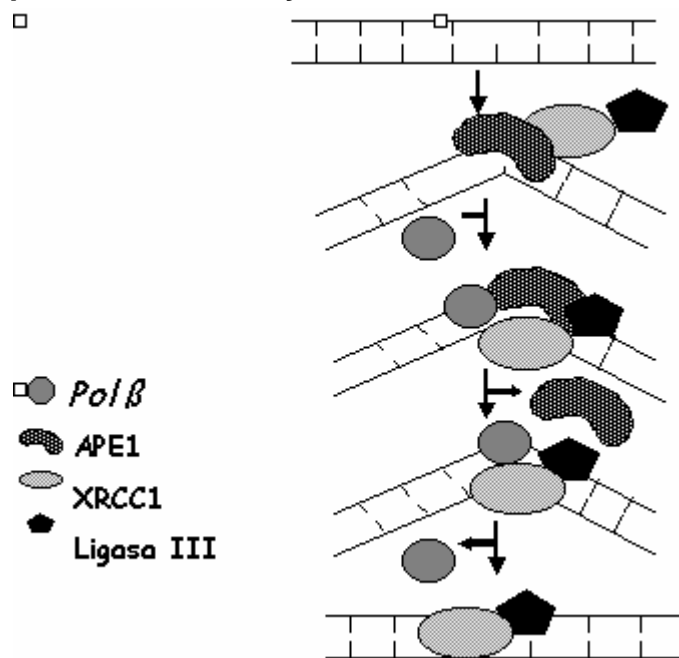


alejado varios pares de bases a cualquier lado de la base dañada y se elimina un fragmento de ADN de cadena sencilla de 12 bases de largo. En la célula a despurinización espontánea es un hecho frecuente, las endonucleasas introducen hendiduras en la cadena mediante la rotura de los enlaces fosfodiéster de los sitios AP, esto promueve un proceso de reparación por escisión mediado por una exonucleasa que elimina un tramo de ADN, la polimerasa I sintetiza ADN nuevo y finalmente la ligasa sella la hebra (Hansen and Kelley, 2000).

### 5.6.1 XRCC1

El gen XRCC1 esta localizado en el cromosoma 19q13.2 y codifica para la proteína XRCC1. Participa en el mantenimiento de la estabilidad del genoma, jugando un papel importante en la reparación por excisión de bases (BER), actúa cuando existe exposición endógena a productos reactivos de oxígeno, radiación ionizante y agentes alquilantes (Vidal *et al.*, 2001).

**Figura 2. Participación de XRCC1 y APE1 en BER.**



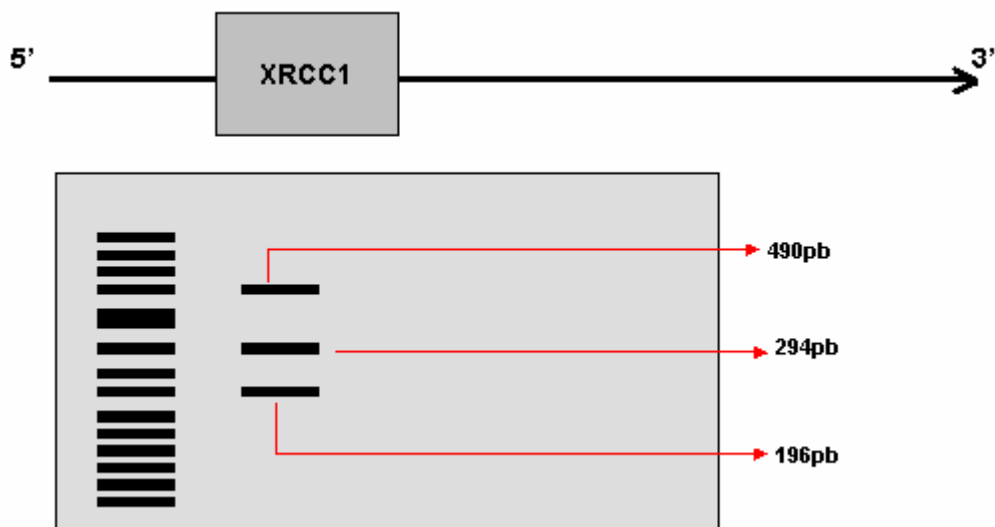
Fuente: (Vidal *et al.*, 2001).

XRCC1 interactúa físicamente con APE1 estimulando su actividad enzimática, esta involucrado en la remoción de sitios abásicos que ocasionan fragilidad en la reparación por excisión de bases (BER) (Figura 2). Su interacción con APE1

estimula la actividad endonucleasa AP. A su vez estimula la acción de Pol  $\beta$  para adicionar los nucleótidos necesarios para sintetizar ADN nuevo en el sitio donde se encuentra en daño, adicionalmente XRCC1 interviene sobre la polimerasa para ejecutar su actividad ligasa.

Las regiones polimórficas del gen XRCC1 investigadas en este estudio son ocasionadas por el cambio de (G/A) en el codón 399 de XRCC1 del exon 10, que causa una substitución de un aminoácido de una arginina por una glutamina Arg/Gln y el cambio de una C/T en el codón 194 de XRCC1 del exón 6 que causa una substitución de aminoácido de una arginina por un triptófano Arg/Trp (Shen *et al.*, 2000). Estos polimorfismos presentan un patrón de bandas de ADN específico que puede identificarse mediante el uso de la técnica molecular electroforesis, como se observa en las Figuras 3 y 4.

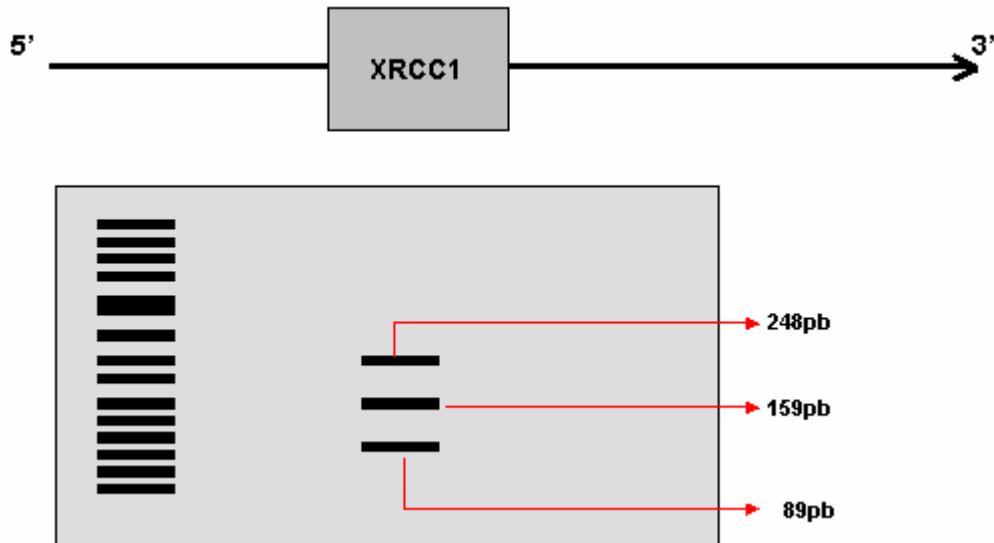
**Figura 3. PCR para XRCC1 Arg194Trp.**



En diferentes poblaciones del mundo se han realizado estudios de los polimorfismos del gen XRCC1 cuyos resultados muestran asociaciones con diferentes tipos de cáncer. Divine y sus colaboradores encontraron una asociación positiva del alelo 399 Gln de XRCC1 con un incremento de riesgo para adenocarcinoma de pulmón (Divine *et al.*, 2001). De igual manera se reportó que este polimorfismo estuvo asociado con un incremento de riesgo para carcinoma celular escamoso de pulmón en una población coreana (Gao *et al.*, 2003). Otro estudio realizado en carcinoma celular escamoso oral en Taiwán indicó que el polimorfismo 399Gln del gen XRCC1 esta asociado con una reducción en la eficiencia de reparación del ADN. Este polimorfismo se encuentra en una región del gen que contiene dominios biológicamente importantes, los cuales tienen homología con otros genes relacionados con la reparación del ADN. Este tipo de

cambios de aminoácidos en sitios conservados pueden alterar la función de la enzima (Hsieh et al., 2003).

**Figura 4. PCR para XRCC1 Arg399Gln**



Un estudio en cáncer colorectal realizado en Taiwán reportó que la interacción de los polimorfismos de los genes XRCC1, XRCC3 y XPD pueden estar asociados con una susceptibilidad individual a este cáncer (Yeh *et al.*, 2005). Adicionalmente se ha demostrado que el humo de cigarrillo y el consumo de alcohol están asociadas con la producción de radicales libres intermedios, incluyendo el Hidroxi-etil y especies reactivas de oxígeno, las cuáles son corregidas en parte por XRCC1 (Hu *et al.*, 2005). Con relación al polimorfismo Arg194 Trp de XRCC1 los resultados han sido relacionados con una reducción del riesgo para cáncer de pulmón y para cáncer gástrico (Shu *et al.*, 2003).

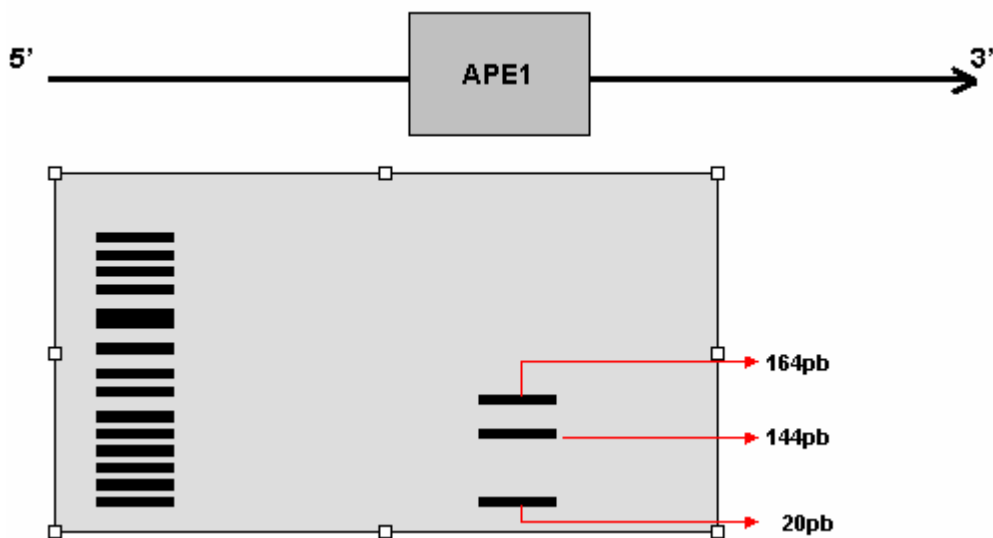
### 5.6.2 APE1

El gen APE1 esta localizado en el cromosoma 14q11.2 y codifica la proteína APE1, es miembro de la familia de proteínas Exonucleasa III (EXOIII) que incluye endonucleasas (AP) y actúa como una endonucleasa AP (Hadi *et al.*, 2000). Es importante en la reparación por excisión de bases (BER) (Vidal *et al.*, 2001), donde actúa como una endonucleasa multifuncional que hidroliza el enlace fosfodiéster en 5' cercano a un sitio apurínico/apirimídico (AP), estos sitios se generan como consecuencia de la hidrólisis espontánea del enlace N-glucosídico entre el residuo de desoxirribosa y la base nitrogenada (Hadi *et al.*, 2000).

APE1, no solo participa en el inicio la reparación de los sitios AP, los primeros 35 aminoácidos de esta proteína interactúan con el gen XRCC1 (Sukhanova *et al.*, 2005). También posee una actividad 3'-fosfodiesterasa cuando se generan residuos o fragmentos abásicos formados por radiación ionizante, radicales libres de oxígeno y drogas anti-tumorales (Wong *et al.*, 2003).

La región polimórfica del gen APE1 investigada en este estudio es ocasionada por el cambio de (T/G) en el codón 148 de APE1 del exon 5, que causa una sustitución de un aminoácido de una asparagina por un ácido glutámico (Hadi *et al.*, 2000). El polimorfismo Asp148Glu del gen APE1 presenta un patrón de bandas de ADN específico, que puede identificarse mediante el uso de la técnica molecular electroforesis, como se observa en la Figura 5.

**Figura 5. PCR para APE1 Asp164Glu**



Con relación a estudios previos del polimorfismo Asp148Glu del gen APE1, un estudio realizado en Japón en cáncer de pulmón indica que los polimorfismos de APE1 Asp148Glu y XRCC1 Arg399Gln juegan un importante rol modificando la dirección y magnitud de la asociación entre la exposición al humo del cigarrillo y el cáncer de pulmón (Ito *et al.*, 2004).

La distribución de las frecuencias de los polimorfismos de reparación de los genes XRCC1 y APE1 presenta variaciones de una población a otra como se muestra en la Tabla 1.

**Tabla 1. Frecuencia de XRCC1 y APE1 en otras poblaciones.**

<b>Población y tipo de Cáncer</b>	<b>XRCC1 Arg194Trp</b>	<b>Asp/Asp %</b>	<b>Asp/Glu %</b>	<b>Glu/Glu %</b>
Blancos (USA)	Casos n=235	88	12	0
Ca Vejiga	Controles n=213	83	17	0
Negros (USA)	Casos n=235	95	5	0
Ca vejiga	Controlesn=213	77	23	0
<b>Población y tipo de Cáncer</b>	<b>XRCC1 Arg399Gln</b>	<b>Arg/Arg %</b>	<b>Arg/Gln %</b>	<b>Gln/Gln %</b>
Blancos (USA)	Casos n=235	40	50	10
Ca Vejiga	Controles n=213	40	47	13
Negros (USA)	Casos n=235	47	53	0
Ca vejiga	Controles n=213	69	31	0
Caucásica	Casos n=463	40	46	14
Ca Pulmón	Controles n=460	37	48	15
Japonesa	Casos n=178	55	37	8
Ca Pulmón	Controles n=449	56	38	6
Italiana	Casos n=108	46	43	11
Ca Vejiga	Controles n=122	43	46	11
<b>Población y tipo de Cáncer</b>	<b>APE1 Asp148/Glu</b>	<b>Asp/Asp</b>	<b>Asp/Glu</b>	<b>Glu/Glu</b>
Japonesa	Casos n=178	35	47	18
Ca Pulmón	Controles n=449	35	50	14
Finlandesa	Casos n=203	21	54	25
Ca Pulmón	Controles n=398	22	53	25

## 6. METODOLOGÍA

### 6.1 DISEÑO EXPERIMENTAL Y TIPO DE ESTUDIO

Este es un estudio epidemiológico molecular de tipo caso-control, de corte transversal, retrospectivo. El diseño experimental esta basado en razón de un control por cada caso (1:1). El tamaño de la muestra es de 100:100 casos:controles, respectivamente.

### 6.2 POBLACIÓN OBJETO DE ESTUDIO

La población objeto de estudio, es parte de la población del proyecto “Epidemiología Molecular de Cáncer Gástrico en el Sur Occidente Colombiano”, financiado por Colciencias (No. 0088-2003) y la universidad del Cauca, ejecutado por el Grupo de Investigación en Genética Humana Aplicada (GIGHA) de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad del Cauca.

Un total de 195 personas fueron reclutadas para el estudio Los **casos** (n = 97) y los **controles** (n = 98). La población pertenece al sector urbano y periurbano del departamento del Cauca. Los **casos** se obtuvieron de las consultas de Gastroenterología realizadas en el Hospital Susana López de Valencia y en el Hospital Universitario San José, correspondientes a CG diagnosticados por endoscopia y confirmados por histopatología. Los controles fueron colectados en los hospitales nivel 1 de seis ejes municipales de acuerdo a la procedencia de los casos, así: Bordo, Tambo, Timbío, Santander de Quilichao, Piendamó y Popayán. Los controles fueron seleccionados mediante una encuesta subclínica y se definieron como individuos sanos sin antecedentes de enfermedades del tracto gastrointestinal, ni sintomatología actual, pareados con los casos por procedencia, sexo y edad ( $\pm 5$  años).

### 6.3 CRITERIOS DE SELECCIÓN

Mediante los criterios de selección se clasificaron los individuos de la población teniendo en cuenta las principales características de interés del estudio que permitieron evitar sesgo en las variables.

### **6.3.1 Criterios de inclusión**

Personas con diagnóstico de CG confirmado con endoscopia y patología positiva sin distinción de sexo, edad y etnia. Personas control que cumplan con los requerimientos para ser pareados con los casos y personas caso:control que voluntariamente desearon participar en el estudio.

### **6.3.2 Criterios de exclusión**

Personas con cirugía gástrica previa, que hayan tenido tratamiento contra *Helicobacter pylori*, quimioterapia o radioterapia y con diagnóstico VIH y HBV positivo.

## **6.4 COLECCIÓN DE INFORMACIÓN Y TOMA DE MUESTRAS**

A las personas que cumplieron con los criterios de selección, y que voluntariamente desearon participar en el estudio se les dió a conocer un consentimiento informado donde está incluido los objetivos, los propósitos, la metodología, los riesgos y los beneficios del estudio (Anexo A). A cada individuo se le realizó una encuesta en la que se consignaron datos sociodemográficos, tipo de dieta, ocupación, consumo de alcohol y cigarrillo, antecedentes familiares entre otros (Anexo B). Luego de finalizar la encuesta y de que los individuos firmaran el consentimiento informado se tomó una muestra de 5 mL de sangre periférica por punción con sistema VACUTAINER, en tubos con EDTA. A continuación a cada encuesta se le asignó un código único y se procedió a almacenar la información en la base de datos del programa SPSS para Windows versión 10 (SPSS Inc. Chicago, IL). Posteriormente a cada muestra de sangre se le asignó el código correspondiente a su encuesta, las muestras de sangre fueron llevadas al laboratorio y procesadas. Finalmente el ADN se almacenó en una cadena de custodia para asegurar la integridad y confidencialidad del participante.

## **6.5 TÉCNICAS DE LABORATORIO**

Se efectuaron cuatro diferentes técnicas de laboratorio para la genotipificación de los genes de reparación de ADN. Inicialmente se realizó la extracción de ADN mediante el protocolo de CHELEX (Walsh *et al.*, 1991), posteriormente se estandarizó la técnica de PCR para la amplificación de los genes XRCC1 y APE1, para identificar la presencia de los 3 polimorfismos genéticos XRCC1

Arg194Trp, XRCC1 Arg399Gln y APE1 Asp148Glu, mediante la digestión de enzimas de restricción (RFLPs), cuyo resultado fue observado en un gel de agarosa mediante la técnica de electroforesis.

### **6.5.1 Extracción de ADN**

Se tomaron 5 ml de sangre periférica a cada individuo de la población por punción venosa en tubos Vacutainer con K<sub>3</sub>EDTA. La extracción del ADN se realizó con 300µl de sangre mediante la técnica de CHELEX-100 al 5% (SIGMA, No. C7901) (Walsh *et al.*, 1991). Inicialmente, a cada muestra se le hicieron 3 lavados con agua Milli-Q estéril, posteriormente se centrifugaron a 6.000 r.p.m. durante 3 minutos. Se descartó el sobrenadante y al botón celular se adicionó 400µl de CHELEX-100, se incubó a 56°C por 30 minutos y luego a 100°C durante 8 minutos, finalmente el ADN fue llevado a -20°C para su preservación.

### **6.5.2 Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)**

El ADN obtenido de cada individuo de la población fue amplificado mediante la Técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR). Esta técnica molecular es empleada para la obtención de múltiples copias de secuencias específicas de ADN (Mullis *et al.*, 1992). Para la amplificación de cada gen de reparación de ADN se estandarizaron protocolos de PCR a condiciones normales en el Laboratorio de Genética Humana de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad del Cauca que se detallan a continuación.

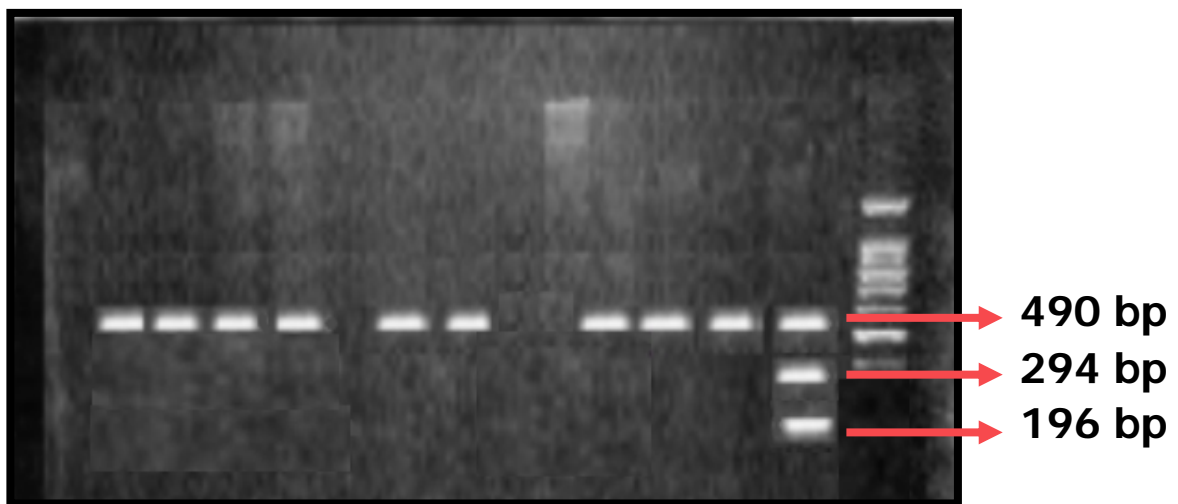
### **6.5.3 Protocolo de PCR para XRCC1 (Arg194Trp)**

Las variantes genéticas de XRCC1 se estandarizaron en el laboratorio según el protocolo de referencia (Au *et al.*, 2003). La determinación del polimorfismo *XRCC1 Arg194Trp* se realizó procesando 4µl de ADN con 10,6µl de H<sub>2</sub>O para molecular (Promega), 0,8µl de primers específicos: forward 5'-GCCCCGTCCCAGGTA-3 y reverse 5'-AGCCCCAAGACCCTTT-3', 1µl de dNTPs, 3,5 µl de 10X buffer PCR (Promega), 3 µl de MgCl<sub>2</sub> (Promega) y 0,3 µl de Taq polimerasa (No. M1865, Promega). Se obtuvo una mezcla final de 25µl. Las condiciones de PCR fueron a una temperatura de 95°C por 2 minutos, seguida por 35 ciclos de 94°C por 10 segundos, 64°C por 40 segundos, 72°C por 40 segundos. Un paso final de extensión de 71°C por 4 minutos. El amplificado fue verificado en gel de agarosa al 2% marcado con bromuro de etidio, corrido a 80 voltios por 55 minutos. El producto de PCR (490 pb) fue digerido con 0,5 µl de la



enzima de restricción *Pvu II* (R0151S, New England Biolabs) a 37 °C durante 16 horas. El producto de la digestión fue verificado por electroforesis en un gel de agarosa al 2% marcado con bromuro de etidio, corrido a 80 voltios por 55 minutos, para determinar así en la presencia o ausencia de una banda de 490 pb para el genotipo silvestre Arg/Arg, tres bandas de 490/294/196 pb para el genotipo heterocigoto mutante Arg/Trp y dos bandas de 294/196 pb para el genotipo homocigoto mutante Trp/Trp (Figura 6) (Hu *et al.*, 2001).

**Figura 6. Patrones de bandas del polimorfismo XRCC1 Arg194Trp**

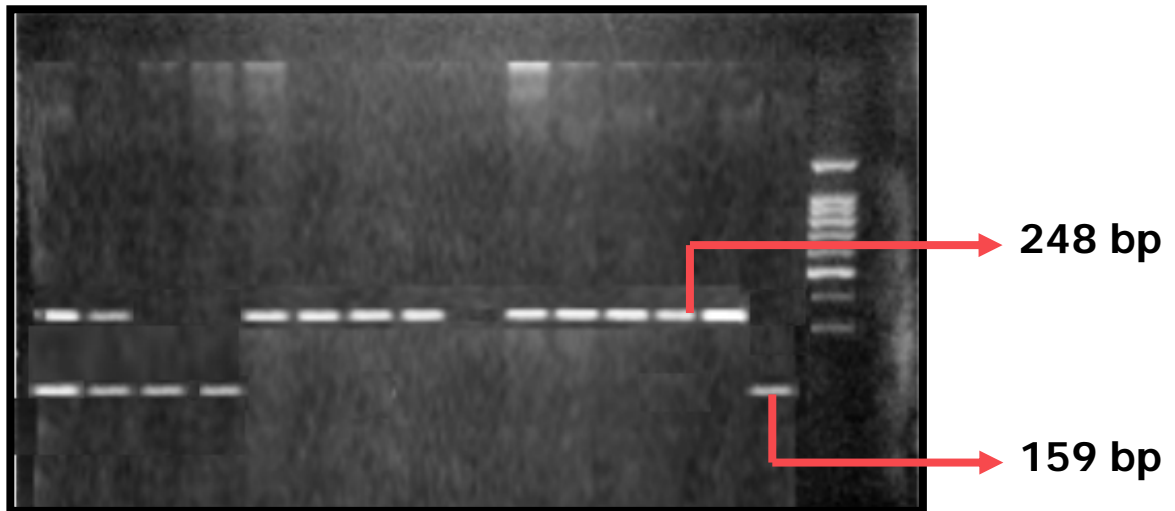


#### **6.5.4 Protocolo de PCR para XRCC1 (Arg399Gln)**

La determinación del polimorfismo *XRCC1 Arg399Gln*, se realizó procesando 4µl de ADN con 10,6µl de H<sub>2</sub>O para molecular (Promega), 0,5µl de primers específicos forward 5'- CAAGTACAGCCAGGTCCTAG-3' y reverse 5'- CCTTCCCTCATCTGGAGTAC-3', 0,5 µl de dNTPs, 3,5 µl de 10X PCR buffer (Promega), 3 µl de MgCl<sub>2</sub> (Promega) y 0,3 µl de Taq polimerasa (No. M1865, Promega) y se obtuvo una mezcla final de 25µl. Las condiciones de PCR fueron a una temperatura de 95°C por 2 minutos, seguida por 40 ciclos de 94°C por 15 segundos, 58°C por 30 segundos, 72°C por 30 segundos y un paso final de extensión de 72°C por 5 minutos. El amplificado fue verificado en gel de agarosa al 2% marcado con bromuro de etidio, corriendo a 80 voltios por 55 minutos. El producto de PCR (248 pb) fue digerido con 0,5 µl de la enzima de restricción *Nci I* (R0196S, New England Biolabs) a 37 °C durante 16 horas, El producto de la digestión fue verificado por electroforesis en un gel de agarosa al 2% marcado con bromuro de etidio, corrido a 80 voltios por 55 minutos, para determinar así en la

presencia o ausencia de una banda de 248 pb para el genotipo silvestre Arg/Arg, tres bandas de 248/159/89 pb para el genotipo heterocigoto Arg/Gln, y dos bandas de 159/89 pb para el genotipo homocigoto Gln/Gln (Figura 7), (Matullo *et al.*, 2001b).

**Figura 7. Patrones de bandas del polimorfismo XRCC1 Arg399Gln**

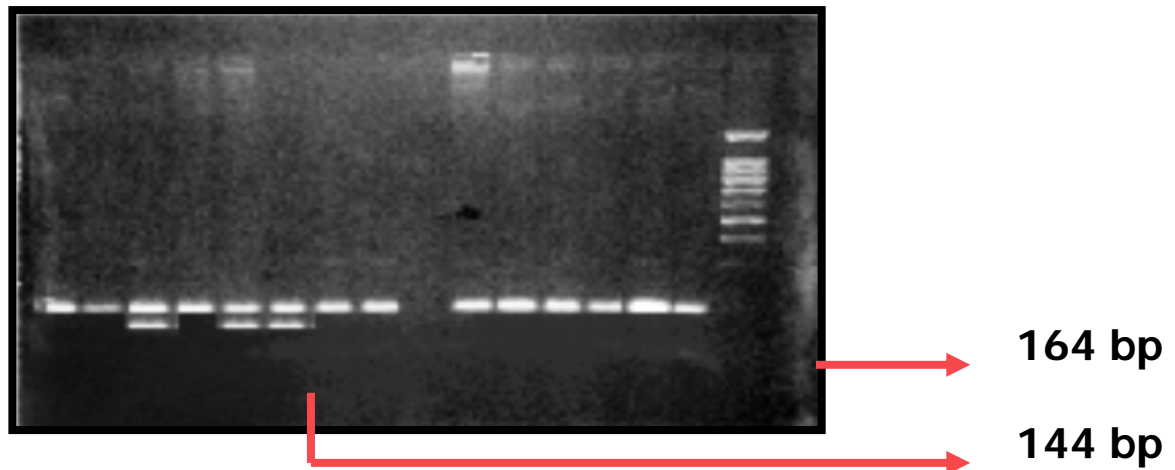


#### **6.5.5 Protocolo de PCR para APE1 (Asp148Glu)**

Las variantes genéticas de APE1 se estandarizaron en el laboratorio según el protocolo de referencia (Au *et al.*, 2003). La determinación del polimorfismo *APE1 Asp148Glu*, se realizó procesando se realizó procesando 4  $\mu$ l de ADN con 10,6  $\mu$ l de H<sub>2</sub>O para molecular (Promega), con 1  $\mu$ l de primers específicos forward 5'-CTGTTTCATTTCTATAGGCTA-3' y reverse 5'-AGGAACTTGCGAAAGGCTTC-3', 1  $\mu$ l de dNTPs, 3.5  $\mu$ l de 10X PCR buffer (Promega), 3  $\mu$ l de MgCl<sub>2</sub> (Promega) y 0.3  $\mu$ l de Taq polimerasa (No. M1865, Promega) y se obtuvo una mezcla final de 25  $\mu$ l. Las condiciones de PCR fueron a una temperatura de 95°C por 2 minutos, seguida por 40 ciclos de 94°C por 15 segundos, 58°C por 30 segundos, 72°C por 30 segundos y un paso final de extensión de 72°C por 5 minutos. El amplificado fue verificado en gel de agarosa al 2% marcado con bromuro de etidio, corriendo a 80 voltios por 55 minutos. El producto de PCR (164 pb) fue digerido con 0,5  $\mu$ l de la enzima de restricción *Bfa I* (R0568L, New England Biolabs) a 37 °C durante 16 horas, El producto de la digestión fue verificado por electroforesis en un gel de agarosa al 2% marcado con bromuro de etidio, corrido a 80 voltios por 55 minutos, para determinar así en la presencia o ausencia de una banda de 164 pb para el genotipo silvestre Asp/Asp, tres bandas de 164/144/20 pb para el genotipo

heterocigoto mutante Asp/Glu y dos bandas de 144/20 pb para el genotipo homocigoto mutante Glu/Glu (Figura 5) (Hu *et al.*, 2001).

**Figura 8. Patrones de bandas del polimorfismo para APE1 Asp148Glu**



## 6.6 PROCESAMIENTO DE DATOS Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO

En el presente estudio se obtuvieron datos de tres fuentes de información, incluyendo variables sociodemográficas, ambientales y genéticas teniendo en cuenta la estructura de la encuesta. Todas las variables fueron almacenadas en la base de datos del programa SPSS para Windows versión 10 (SPSS Inc., Chicago, IL).

Para determinar la asociación entre cada variable y susceptibilidad a CG, el valor dicotómico de estado del sujeto (caso vs. control) fue regresado en contra de cada evento biológico para estimar el riesgo (OR) y los intervalos de confianza del 95%, utilizando un modelo de regresión logístico múltiple. Los OR fueron ajustados por edad, sexo y procedencia.

La prueba de Chi-cuadrado generada por el modelo de regresión evaluó la hipótesis de no asociación entre el estado del sujeto con cada variable. Un nivel de probabilidad menor de 0.05 fue utilizada como criterio de significancia estadística. Los niveles de significancia (valores p) corresponden a pruebas con dos-colas. Todos los análisis estadísticos fueron ejecutados con el software SPSS.

## **6.7 CONSIDERACIONES ÉTICAS**

Previamente a la toma de la muestra se comunicó a cada individuo de la población de estudio la importancia, los objetivos, los propósitos, la metodología, los riesgos y beneficios y los resultados esperados del proyecto, se les informó como podrían formar parte del estudio en caso de que quisieran participar voluntariamente, posteriormente cada individuo firmó un consentimiento informado de participación voluntaria (Anexo A), según lo dispuesto en la Resolución No. 008430 de 1993 del Ministerio de Salud. Adicionalmente cada encuesta realizada a la población fue codificada para garantizar que el estudio tuviera en cuenta los aspectos éticos de confidencialidad.

## 7. RESULTADOS

### 7.1 CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO

La Tabla 2 indica las características generales de la población de estudio. Se incluyó un número total de 195 personas, 97 casos y 98 controles. El promedio de edad de los casos fue de  $64,67 \pm 1,25$  años, con una mayoría del sexo masculino (65%) y procedencia del sector urbano (53%).

**Tabla 2. Características sociodemográficas de la población de estudio.**

<b>Características</b>	<b>Casos n (%)</b>	<b>Controles n (%)</b>	<b>Probabilidad</b>
<b>Total</b>	97	98	
<b>Edad</b>			
Media $\pm$ DE	64,67 $\pm$ 1,25	64,88 $\pm$ 1,23	0,870 <sup>a</sup>
<b>Sexo</b>			
Masculino	60 (62)	64 (65)	0,617 <sup>b</sup>
Femenino	37 (38)	34 (35)	
<b>Procedencia</b>			
Rural	46 (47)	35 (36)	0,097 <sup>b</sup>
Urbano	51 (53)	63 (64)	
<b>Educación</b>			
Ninguno	31 (32)	21 (22)	0,001 <sup>b</sup>
Primaria	62 (64)	55 (56)	
Secundaria/Sup.	4 (4)	22 (22)	
<b>Ocupación</b>			
Agricultor	43 (44)	33 (34)	0,001 <sup>b</sup>
Ama de casa	26 (27)	19 (19)	
Empleado	4 (4)	25 (26)	
Independiente	24 (25)	21 (21)	
<b>Ingresos</b>			
>1 SMLV	1 (1)	10 (10)	0,010 <sup>b</sup>
$\leq$ 1 SMLV	96 (99)	88 (90)	

<sup>a</sup> Prueba de  $t$  para la comparación de medias.

<sup>b</sup> Prueba de  $\chi^2$  para la comparación de proporciones.

Como se indica en la Tabla 2, se observa que el 96% de los casos presentaron un bajo nivel educativo ( $\leq$  primaria) en comparación con un 78% de los controles ( $p = 0,001$ ). Además, el 22% de los controles han realizado estudios de secundaria-superior mientras que solo el 4% de los casos lo han hecho. La ocupación también presentó diferencia significativa entre casos y controles, dado que la mayoría de los casos fueron agricultores (44%). A su vez, la variable ingresos presentó una diferencia significativa, donde se observa que el 99% de los casos tienen ingresos  $\leq$  a un salario mínimo mientras que el 1% de los casos lo tienen.

En el departamento del Cauca las zonas de mayor afluencia de los casos fueron la zona centro (76%), seguida por la zona del sur-occidente (15%) (Tabla 3).

**Tabla 3. Zona de procedencia de la población de estudio.**

Zona	n (%)
Centro	149 (76)
Sur-occidente	30 (15)
Norte	9 (4)
Sur-orienté	5 (3)
Oriente	1 (1)
Occidente	1 (1)

## 7.2 ORIGEN Y TRATAMIENTO DE AGUAS Y EXCRETAS

**Tabla 4. Origen y tratamiento de aguas y excretas.**

Variable	Casos n (%)	Controles n (%)	Probabilidad <sup>a</sup>
<b>Total</b>	97	98	
<b>Origen</b>			
Acueducto	81 (84)	86 (88)	
Río	9 (9)	7 (7)	
Pozo	4 (4)	5 (5)	
Otros	3 (3)	–	0,320
<b>Tratamiento</b>			
No	40 (41)	27 (28)	
Si	57 (59)	71 (72)	0,044
<b>Excretas</b>			
Sanitario	84 (87)	89 (91)	
Pozo/letrina	5 (5)	6 (6)	
Campo	8 (8)	3 (3)	0,286

<sup>a</sup> Prueba de  $\chi^2$  para la comparación de proporciones.

En la Tabla 4 se observa que la variable origen del agua no mostró diferencia significativa entre casos y controles ( $p = 0.320$ ). De otro lado, la variable tratamiento del agua muestra una diferencia significativa ( $p = 0,044$ ), ya que el 41% de los casos no tratan el agua mientras que el 72% de los controles si lo hacen. El manejo de excretas no mostró diferencia significativa ( $p = 0,286$ ).

### 7.3 ESTILO DE VIDA DE LA POBLACIÓN

Las variables de estilo de vida de la población analizadas en este estudio como son el consumo de cigarrillo y de bebidas alcohólicas no mostraron diferencia significativa entre casos y controles, consumo de cigarrillo ( $p = 0,169$ ), consumo de alcohol ( $p = 0,052$ ) (Tabla 5).

**Tabla 5. Consumo de cigarrillo y bebidas alcohólicas.**

Variable	Casos n (%)	Controles n (%)	Probabilidad <sup>a</sup>
<b>Total</b>	97	98	
<b>Cigarrillo</b>			
No Fumador	56 (58)	47 (48)	
Fumador Actual	4 (4)	10 (10)	
Exfumador	37 (38)	41 (42)	0,169
<b>Alcohol</b>			
No	48 (49)	35 (36)	
Si	49 (51)	63 (64)	0,052

<sup>a</sup> Prueba de  $\chi^2$  para la comparación de proporciones.

### 7.4 HÁBITOS ALIMENTICIOS

Las variables de hábitos alimenticios analizadas en este estudio muestran grandes diferencias significativas relacionadas con el desarrollo de cáncer gástrico (CG) en la población. En la Tabla 6 se observa que el 64% de los casos consumen alimentos ahumados en su dieta mientras solamente el 41% de los controles lo hacen ( $p = 0,001$ ), con un consumo de al menos 1 vez por semana del 35% para los casos y 21% para los controles. En cuanto al consumo de alimentos preservados con sal también se observa una diferencia significativa asociada a CG ( $p = 0,000$ ), ya que el 71% de los casos acostumbra a consumir alimentos salados mientras que solo el 46% de los controles lo hace. A su vez el consumo de habas muestra una diferencia

estadísticamente significativa donde el 52% de los casos consume habas mientras el 77% de los controles no consume.

**Tabla 6. Hábitos alimenticios.**

<b>Variable</b>	<b>Casos n (%)</b>	<b>Controles n (%)</b>	<b>Probabilidad<sup>a</sup></b>
<b>Total</b>	97	98	
<b>Ahumados</b>			
No	35 (36)	58 (59)	
Si	62 (64)	40 (41)	0,001
Diario	13 (14)	2 (2)	
1 vez/semana	34 (35)	20 (21)	
1-2 vez/mes	12 (12)	9 (9)	
1-6 vez/año	3 (3)	9 (9)	0,001
<b>Preservados con sal</b>			
No	28 (29)	53 (54)	
Si	69 (71)	45 (46)	0,001
Diario	18 (19)	7 (7)	
1 vez/semana	42 (43)	27 (28)	
1-2 vez/mes	8 (8)	7 (7)	
1-6 vez/año	1 (1)	4 (4)	0,001
<b>Habas</b>			
No	47 (48)	75 (77)	
Si	50 (52)	23 (23)	0,000
Diario	18 (19)	2 (2)	
1 vez/semana	18 (19)	6 (6)	
1-2 vez/mes	7 (7)	7 (7)	
1-6 vez/año	7 (7)	8 (8)	0,001
<b>Frutas</b>			
No	10 (10)	3 (3)	
Si	87 (90)	95 (97)	0,042
Diario	14 (15)	43 (44)	
1 vez/semana	42 (43)	37 (38)	
1-2 vez/mes	22 (23)	11 (11)	
1-6 vez/año	9 (9)	4 (4)	0,001
<b>Verduras</b>			
No	12 (12)	3 (3)	
Si	85 (88)	95 (97)	0,015
Diario	19 (20)	55 (56)	
1 vez/semana	39 (40)	34 (35)	
1-2 vez/mes	25 (26)	5 (5)	
1-6 vez/año	2 (2)	1 (1)	0,001

<sup>a</sup> Prueba de  $\chi^2$  para la comparación de proporciones.



Por su parte los resultados relacionados con la ingesta de frutas y verduras sugieren que estos actúan como un factor protector para CG presentándose una gran diferencia significativa entre casos y controles, observada principalmente en el consumo diario frutas (15 vs. 44%, respectivamente) y verduras (20 vs. 56%, respectivamente).

## 7.5 GENOTIPO Y RIESGO ASOCIADO A CÁNCER GÁSTRICO

La Tabla 7 indica la distribución y el riesgo asociado a cáncer gástrico (CG) de los polimorfismos genéticos de reparación XRCC1 y APE1. En la distribución del polimorfismo XRCC1 Arg194Trp no se encuentra diferencia significativa entre casos y controles ( $p = 0,387$ ). La distribución de este polimorfismo mostró poca variabilidad siendo la gran mayoría de la población silvestre, seguida por el genotipo heterocigoto; al realizar un análisis de riesgo se observó que ninguna de sus variantes genéticas tiene un riesgo asociado a CG. La diferencia de la distribución del polimorfismo XRCC1 Arg399Gln no es estadísticamente significativa entre casos y controles ( $p = 0,083$ ); sin embargo, la variante homocigoto mostró un riesgo 2,9 veces mayor para CG en personas que porten este genotipo, después de ajustar por las potenciales variables de confusión. La distribución del polimorfismo APE1 Asp148Glu fue similar entre casos y controles ( $p = 0,397$ ), siendo en la mayoría de la población de genotipo silvestre. Al realizar un análisis de riesgo no se observa ninguna asociación con CG.

**Tabla 7. Genotipo y riesgo asociado (OR) a cáncer gástrico.**

Genotipo	Casos n (%)	Controles n (%)	OR <sup>a</sup> (95% IC)	OR <sup>b</sup> (95% IC)
<b>Total</b>	97	98		
<b>XRCC1-194</b>				
Arg/Arg	66 (68)	72 (74)		
Arg/Trp	31 (32)	25 (25)	1,3 (0,72-2,52)	1,4 (0,80-2,73)
Trp/Trp	0 (0)	1 (1)		
<b>XRCC1-399</b>				
Arg/Arg	31 (32)	41 (42)		
Arg/Gln	47 (48)	48 (49)	1,3 (0,69-2,40)	1,5 (0,77-2,80)
Gln/Gln	19 (20)	9 (9)	2,8 (1,11-7,00)	2,9 (1,14-7,70)
<b>APE1-148</b>				
Asp/Asp	50 (52)	57 (58)		
Asp/Glu	42 (43)	39 (40)	1,2 (0,70-2,20)	1,2 (0,70-2,20)
Glu/Glu	5 (5)	2 (2)	2,8 (0,53-15,3)	2,5 (0,45-14,4)

<sup>a</sup> Riesgo crudo.

<sup>b</sup> Riesgo ajustado en el modelo de regresión logística múltiple agregando las variables independientes edad, sexo y procedencia.

## 8. DISCUSIÓN

### 8.1 SOCIODEMOGRAFÍA

Resultados epidemiológicos indican que a pesar de la tendencia decreciente del cáncer gástrico (CG) en la última década, esta patología sigue siendo uno de los principales problemas de salud pública en el mundo (Inoue and Tsugane, 2005). En cualquier región del mundo, la incidencia de CG es mas alta en hombres que en mujeres con una relación de aproximadamente 1,5–2,5:1 respectivamente (Roder, 2002). En Colombia la relación hombre:mujer es de 2:1 según el Instituto Nacional de cancerología (2001). Los resultados de este estudio coinciden con estos datos e indican una relación (hombre:mujer) 1,6:1. La edad promedio de la población en el presente estudio fue de  $64,67 \pm 1,25$  años, de igual forma a nivel mundial la incidencia del CG se presenta mayoritariamente entre los 50 y 70 años (Kelley and Duggan, 2003).

Los resultados de este estudio muestran que la procedencia de la población de casos fue casi equivalente entre rural y urbana, el 47% proviene de zona rural y el 53% de zona urbana. Sin embargo, los resultados indican que la mayoría de los casos se dedican a la agricultura, al hogar o son independientes, solo el 4% de los casos son empleados públicos. Estas características ocupacionales podrían estar relacionadas con un mayor riesgo para CG, dado que el tipo de ocupación tiende a menudo a definir la clase social y por tanto establece las condiciones de vida de las personas, como son el acceso a la educación y a los sistemas de salud (Raj *et al.*, 2003).

En esta población la educación fue un factor importante asociado a CG ya que la gran mayoría de los casos tenían un nivel educativo bajo en comparación con los controles. De esta manera, podría sugerirse que dependiendo del tipo de educación de la población general se define el tipo de ocupación y por tanto sus ingresos. Lo cual se demuestra al observar que el 99% de los casos tenía un nivel de ingresos inferior al salario mínimo, hecho que afecta de manera importante las condiciones de vida de la población (Raj *et al.*, 2003).

## 8.2 TRATAMIENTO DE AGUAS

Nuestros resultados demuestran que existe una asociación en la falta de tratamiento del agua y el desarrollo de cáncer gástrico (CG) en la población. Teniendo en cuenta que *Helicobacter pylori* es el principal factor de riesgo a CG y que el suministro de agua es una de las principales vías de infección de esta bacteria (Kikuchi, 2002), podemos sugerir que esta practica podría ser un factor de riesgo importante.

## 8.3 ESTILO DE VIDA

Resultados de estudios relacionados con el consumo de cigarrillo y de alcohol y su asociación con CG han generado una gran controversia porque la evidencia no permite una diferenciación clara del riesgo (Kelley and Duggan, 2003). En algunos reportes, estos actúan como factores exógenos que causan daño en el ADN e incrementan el riesgo a CG, en otros por el contrario no se demuestra una clara asociación para dicho riesgo (Correa *et al.*, 2004). Un ejemplo de esto es un estudio realizado en una población uruguaya en la que no se encontró asociación entre el consumo de bebidas alcohólicas y CG pero hubo una directa asociación entre el consumo de cerveza y CG; por otra parte se reportó un riesgo de 1,5 veces para CG en personas fumadoras (De Stefani *et al.*, 2004). En nuestra población los resultados no muestran diferencia significativa entre casos y controles relacionado con el consumo de cigarrillo. Con relación al consumo de alcohol los resultados se encuentran en el límite de diferencia significativa ( $p = 0,052$ ), indicando que son los controles las personas que más consumen alcohol (64%) con relación a los casos (51%); sin embargo, en este estudio no se estableció una clara relación de dosis-respuesta para el consumo de alcohol que permitan soportar esta asociación.

## 8.4 HÁBITOS ALIMENTICIOS

La dieta ha sido asociada como un factor etiológico de CG en numerosos estudios internacionales (Correa *et al.*, 2004). De acuerdo con los reportes de la Organización Mundial de la Salud y la FAO, la dieta ha sido definida tanto como un factor de riesgo como también factor protector para CG (Margetts, 2003). La ingesta de alimentos con actividad antioxidante neutraliza los radicales libres e inhibe la formación de compuestos N-nitrosos presentes en los alimentos ahumados (Inoue and Tsugane, 2005). De acuerdo con estos hallazgos, nuestro estudio mostró que existe una mayor frecuencia de consumo de alimentos ahumados en pacientes con CG que en la población control. Estudios Previos han considerado que los alimentos salados no son recomendables porque actúan como cofactores en el desarrollo CG y su exceso lesiona la mucosa gástrica iniciando gastritis y posteriormente cáncer (Kelley and

Duggan, 2003). Un estudio cohorte realizado en Japón mostró como el consumo de alimentos preservados con sal aumenta el riesgo de CG, debido a carcinógenos químicos que pueden formarse por reacción de nitritos y nitratos en el proceso de preservación de los alimentos (Tsugane *et al.*, 2004). En el presente estudio, la población de casos reporto un alto consumo de sal, debido a que ésta se utiliza como una fuente importante de preservación, ya que la mayoría de la población de casos carece de medios de refrigeración. El consumo de habas, una fuente alimenticia en el sur occidente colombiano, estuvo asociado con la presencia de CG en la población. Las habas contienen un compuesto denominado N-nitrosocloroindol, el cual tiene una acción mutagénica y carcinogénica (Cuello *et al.*, 1976).

Se ha determinado que el consumo de frutas y vegetales actúa como factor protector para CG, algunos de estos grupos de alimentos son ricos en vitamina C, la cual bloquea la nitrosación intragástrica ocasionada por *Helicobacter pylori*, interrumpiendo de esta forma los pasos que llevan al desarrollo de gastritis atrófica y de carcinogénesis gástrica (Inoue and Tsugane, 2005). La reducción de concentración de vitamina C en personas infectadas con *Helicobacter pylori* puede ser factor causante de CG (Woodward *et al.*, 2001), sumado a esto la erradicación total de *Helicobacter pylori* promueve la secreción de vitamina C en el jugo gástrico, incrementando la protección para CG (Hohenberger and Gretschel, 2003). En recientes ensayos aleatorios donde se utilizan antioxidantes como el betacaroteno y el ácido ascórbico para la quimio-prevención de displasia gástrica se observó una reducción en la progresión de la gastritis atrófica y la metaplasia intestinal (Correa *et al.*, 2000). Otro estudio realizado en Estados Unidos sugiere que el alto consumo de frutas y verduras juega un rol importante en la protección de la mucosa gástrica (McCullough *et al.*, 2001). Los resultados obtenidos en este estudio coinciden con los datos que reporta la literatura científica, ya que establecen que el consumo de frutas actúa como factor protector en quienes tienen una ingesta diaria en comparación con las personas que no la tienen. De igual forma el consumo periódico de verduras, también actúa como factor protector. Estos resultados son importantes para la población del departamento del Cauca porque al incrementar el consumo de frutas y verduras se podría disminuir el riesgo de CG.

## **8.5 GENES DE REPARACIÓN Y CÁNCER GÁSTRICO**

La reparación de daños en el ADN inducidos por carcinógenos es un aspecto importante en la carcinogénesis (Shen *et al.*, 2003). Estudios han demostrado que los polimorfismos genéticos de genes de reparación de ADN pueden contribuir a la variación individual en la capacidad de reparación del ADN y puede estar asociado con el riesgo a desarrollar cáncer (Shen *et al.*, 2004).

En un estudio caso-control realizado en una población China en el año 2000 sobre cáncer gástrico y los polimorfismos de XRCC1 se encontró un elevado riesgo de cáncer gástrico sugiriendo que estos polimorfismos pueden contribuir al riesgo y además, jugar un rol importante en la etiología del CG; especialmente el localizado en el cardias. Al realizarse combinaciones genotípicas se encontró un riesgo ajustado de 2,5 (Shen *et al.*, 2000).

Nuestros resultados indican que la distribución del polimorfismo XRCC1 Arg194Trp no presentó una diferencia significativa entre casos y controles ( $p = 0,387$ ), ni mostró una asociación de riesgo con CG. Estudios realizados previamente muestran diferencias en los resultados de riesgo a cáncer. Estos han sido inconsistentes con relación al riesgo de cáncer de pulmón, interacción gen-ambiente con cigarrillo, alcohol y antioxidantes (Ito *et al.*, 2004). Un meta-análisis de los polimorfismos de XRCC1 y riesgo a cáncer demostró que la variante Trp/Trp de este polimorfismo, estuvo asociada con un decremento significativo de riesgo de cáncer con un OR de 0,89; IC:95%, (0,81-0,98) (Hu *et al.*, 2005). Contrariamente, otro estudio indica que el genotipo XRCC1 Arg194Trp fue un factor de riesgo para cáncer de la cavidad oral con un riesgo ajustado de 2,46 (Sturgis *et al.*, 1999).

Con relación al polimorfismo XRCC1 Arg399Gln, nuestros resultados no demuestran diferencia significativa ( $p= 0,083$ ), sin embargo al realizar el análisis de riesgo, se encontró un riesgo ajustado de 2,9 (IC: 1,14-7,70) para la variante homocigota Gln/Gln, indicando que las personas que posean esta variante genotípica tienen mayor riesgo para CG. En diferentes partes del mundo los resultados de estudios previos, relacionados con este polimorfismo difieren con relación al riesgo a cáncer ya que no han mostrado evidencia consistente de asociación (Figueiredo *et al.*, 2004). Un estudio realizado en Taiwán en carcinoma celular escamoso oral en el año 2003, demostró una asociación significativa entre la frecuencia de mutaciones del gen p53 y el genotipo XRCC1 Glu399Glu con un riesgo ajustado de 5,03 (Hsieh *et al.*, 2003), mientras que los resultados de un meta-análisis definieron que la variante homocigota Gln/Gln del polimorfismo Arg399Glu del gen XRCC1 no estuvo asociado con varios tipos de cáncer comparado con el genotipo silvestre Arg/Arg (Hu *et al.*, 2005). Adicionalmente, se ha reportado que los polimorfismos de XRCC1 arg399gln están vinculados con altos niveles de aductos en el ADN (Lunn *et al.*, 1999; Matullo *et al.*, 2001b), sensibilidad a la bleomicina (Wang *et al.*, 2003) y frecuencias de intercambio de cromátidas hermanas (Abdel-Rahman and El-Zein, 2000). A su vez estos polimorfismos se han evaluado en estudios epidemiológicos en muchos tipos de cáncer; de los cuales no se encontró asociación con cáncer de esófago (Xing *et al.*, 2002), cáncer de vejiga (Duell *et al.*, 2002; Matullo *et al.*, 2001a) y se han establecido posibles asociaciones para cáncer de páncreas (Duell *et al.*, 2002), cáncer de próstata (van Gils *et al.*, 2002), cáncer de seno (Duell *et al.*, 2001) y CG (Shen *et al.*, 2000); con relación a cáncer de pulmón dos estudios en caucásicos, un estudio afroamericano y un estudio coreano demostraron una significativa asociación con este polimorfismo (Ito *et al.*, 2004). Sumado a esto, se han encontrado

diferencias en las frecuencia alélicas del gen XRCC1 debido a variaciones étnicas, heterogeneidad de la población de estudio y diferentes tamaños de muestra (Ito *et al.*, 2004).

Nuestros datos muestran que el polimorfismo Asp148Glu del gen APE1 no tiene diferencia significativa ( $p= 0,397$ ) sugiriendo que en esta población las variantes polimórficas de este gen no tienen ninguna asociación con CG. Con relación a este polimorfismo son muy pocos los estudios que se han realizado. Sin embargo un estudio realizado en Japón para el cáncer de pulmón concluyó que los polimorfismos APE1 Asp148Glu y XRCC1 Arg399Gln, juegan un rol importante modificando la dirección y magnitud de la asociación entre la exposición al humo de cigarrillo y el riesgo de cáncer de pulmón (Ito *et al.*, 2004).

Estos resultados indican que el genotipo homocigoto Gln/Gln del gen XRCC1 podría conferir susceptibilidad genética para el desarrollo de CG en la población caucana. Sin embargo, es necesario ampliar el tamaño de muestra en otras investigaciones para confirmar esta observación y establecer las posibles interacciones entre este polimorfismo y otros factores de riesgo para CG.

## 9. CONCLUSIONES

El análisis de los datos de nuestro estudio sugieren que:

1. El tipo de educación, la ocupación y los ingresos, son factores importantes que pueden afectar el riesgo de desarrollar cáncer gástrico (CG) en la población.
2. El consumo de agua de consumo sin hervir o filtrar, actúa como un factor de riesgo importante a CG porque esta es una de las vías principales para adquirir la infección con *Helicobacter pylori*.
3. El estilo de vida de esta población enmarcado en el consumo de alcohol y de cigarrillo no muestran ninguna asociación de riesgo con CG; sin embargo, sería necesario ampliar el estudio para establecer la asociación de estas variables con el desarrollo de CG.
4. El consumo de alimentos ahumados, salados y de habas son factores de riesgo importantes para CG, mientras que la ingesta de frutas y verduras actúa como factor protector.
5. El polimorfismo XRCC1 Arg399Gln mostró una clara asociación de riesgo con CG, relacionada con la variante homocigota Gln/Gln mientras que las variantes genotípicas de los polimorfismos XRCC1 Arg194Trp y APE1 Asp148Glu no mostraron asociación con CG.

## BIBLIOGRAFÍA

Abdel-Rahman SZ, El-Zein RA. The 399Gln polymorphism in the DNA repair gene XRCC1 modulates the genotoxic response induced in human lymphocytes by the tobacco-specific nitrosamine NNK. *Cancer Lett* 2000;159(1):63-71.

Au WW, Salama SA, Sierra-Torres CH. Functional characterization of polymorphisms in DNA repair genes using cytogenetic challenge assays. *Environ Health Perspect* 2003;111(15):1843-50.

Chen YC, Hunter DJ. Molecular epidemiology of cancer. *CA Cancer J Clin* 2005;55(1):45-54.

Correa P. Is gastric cancer preventable? *Gut* 2004;53(9):1217-9.

Correa P, Fontham ET, Bravo JC, Bravo LE, Ruiz B, et al. Chemoprevention of gastric dysplasia: randomized trial of antioxidant supplements and anti-helicobacter pylori therapy. *J Natl Cancer Inst* 2000;92(23):1881-8.

Correa P, Piazuelo MB, Camargo MC. The future of gastric cancer prevention. *Gastric Cancer* 2004;7(1):9-16.

Crookes PF. Gastric cancer. *Clin Obstet Gynecol* 2002;45(3):892-903.

Cuello C, Correa P, Haenszel W, Gordillo G, Brown C, Archer M, Tannenbaum S. Gastric cancer in Colombia. I. Cancer risk and suspect environmental agents. *J Natl Cancer Inst* 1976;57(5):1015-20.

De Stefani E, Correa P, Boffetta P, eo-Pellegrini H, Ronco AL, Mendilaharsu M. Dietary patterns and risk of gastric cancer: a case-control study in Uruguay. *Gastric Cancer* 2004;7(4):211-20.

Demokan S, Demir D, Suoglu Y, Kiyak E, Akar U, Dalay N. Polymorphisms of the XRCC1 DNA repair gene in head and neck cancer. *Pathol Oncol Res* 2005;11(1):22-5.

Divine KK, Gilliland FD, Crowell RE, Stidley CA, Bocklage TJ, Cook DL, Belinsky SA. The XRCC1 399 glutamine allele is a risk factor for adenocarcinoma of the lung. *Mutat Res* 2001;461(4):273-8.

Duell EJ, Holly EA, Bracci PM, Wiencke JK, Kelsey KT. A population-based study of the Arg399Gln polymorphism in X-ray repair cross-complementing group 1 (XRCC1) and risk of pancreatic adenocarcinoma. *Cancer Res* 2002;62(16):4630-6.

Duell EJ, Millikan RC, Pittman GS, Winkel S, Lunn RM, et al. Polymorphisms in the DNA repair gene XRCC1 and breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001;10(3):217-22.



Duell EJ, Wiencke JK, Cheng TJ, Varkonyi A, Zuo ZF, et al. Polymorphisms in the DNA repair genes XRCC1 and ERCC2 and biomarkers of DNA damage in human blood mononuclear cells. *Carcinogenesis* 2000;21(5):965-71.

Figueiredo JC, Knight JA, Briollais L, Andrulis IL, Ozcelik H. Polymorphisms XRCC1-R399Q and XRCC3-T241M and the risk of breast cancer at the Ontario site of the Breast Cancer Family Registry. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2004;13(4):583-91.

Furberg AH, Ambrosone CB. Molecular epidemiology, biomarkers and cancer prevention. *Trends Mol Med* 2001;7(11):517-21.

Gao WM, Romkes M, Day RD, Siegfried JM, Luketich JD, Mady HH, Melhem MF, Keohavong P. Association of the DNA repair gene XPD Asp312Asn polymorphism with p53 gene mutations in tobacco-related non-small cell lung cancer. *Carcinogenesis* 2003;24(10):1671-6.

Hadi MZ, Coleman MA, Fidelis K, Mohrenweiser HW, Wilson DM, III. Functional characterization of Ape1 variants identified in the human population. *Nucleic Acids Res* 2000;28(20):3871-9.

Hansen WK, Kelley MR. Review of mammalian DNA repair and translational implications. *J Pharmacol Exp Ther* 2000;295(1):1-9.

Hoeijmakers JH. Genome maintenance mechanisms for preventing cancer. *Nature* 2001;411(6835):366-74.

Hohenberger P, Gretschel S. Gastric cancer. *Lancet* 2003;362(9380):305-15.

Hsieh LL, Chien HT, Chen IH, Liao CT, Wang HM, et al. The XRCC1 399Gln polymorphism and the frequency of p53 mutations in Taiwanese oral squamous cell carcinomas. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2003;12(5):439-43.

Hu JJ, Smith TR, Miller MS, Mohrenweiser HW, Golden A, Case LD. Amino acid substitution variants of APE1 and XRCC1 genes associated with ionizing radiation sensitivity. *Carcinogenesis* 2001;22(6):917-22.

Hu Z, Ma H, Chen F, Wei Q, Shen H. XRCC1 polymorphisms and cancer risk: a meta-analysis of 38 case-control studies. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005;14(7):1810-8.

Huffman JL, Sundheim O, Tainer JA. DNA base damage recognition and removal: new twists and grooves. *Mutat Res* 2005;577(1-2):55-76.

Inoue M, Tsugane S. Epidemiology of gastric cancer in Japan. *Postgrad Med J* 2005;81(957):419-24.

Instituto Nacional de Cancerología. Boletín Informativo. 2001.

Ito H, Matsuo K, Hamajima N, Mitsudomi T, Sugiura T, et al. Gene-environment interactions between the smoking habit and polymorphisms in the DNA repair genes,

APE1 Asp148Glu and XRCC1 Arg399Gln, in Japanese lung cancer risk. *Carcinogenesis* 2004;25(8):1395-401.

Izumi T, Hazra TK, Boldogh I, Tomkinson AE, Park MS, Ikeda S, Mitra S. Requirement for human AP endonuclease 1 for repair of 3'-blocking damage at DNA single-strand breaks induced by reactive oxygen species. *Carcinogenesis* 2000;21(7):1329-34.

Katz JP, Kaestner KH. Cellular and molecular mechanisms of carcinogenesis. *Gastroenterol Clin North Am* 2002;31(2):379-94.

Kelley JR, Duggan JM. Gastric cancer epidemiology and risk factors. *J Clin Epidemiol* 2003;56(1):1-9.

Kikuchi S. Epidemiology of *Helicobacter pylori* and gastric cancer. *Gastric Cancer* 2002;5(1):6-15.

LAUREN P. The two histological main types of gastric carcinoma: diffuse and so-called intestinal- type carcinoma. An attempt at a histo-clinical classification. *Acta Pathol Microbiol Scand* 1965;64():31-49.

Lunn RM, Langlois RG, Hsieh LL, Thompson CL, Bell DA. XRCC1 polymorphisms: effects on aflatoxin B1-DNA adducts and glycophorin A variant frequency. *Cancer Res* 1999;59(11):2557-61.

Margetts B. Feedback on WHO/FAO global report on diet, nutrition and prevention of chronic diseases(NCD). *Public Health Nutr* 2003;6(5):423-4.

Marshall BJ. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet* 1983;1(8336):1273-5.

Matullo G, Guarrera S, Carturan S, Peluso M, Malaveille C, Davico L, Piazza A, Vineis P. DNA repair gene polymorphisms, bulky DNA adducts in white blood cells and bladder cancer in a case-control study. *Int J Cancer* 2001a;92(4):562-7.

Matullo G, Palli D, Peluso M, Guarrera S, Carturan S, et al. XRCC1, XRCC3, XPD gene polymorphisms, smoking and (32)P-DNA adducts in a sample of healthy subjects. *Carcinogenesis* 2001b;22(9):1437-45.

Mayne ST, Navarro SA. Diet, obesity and reflux in the etiology of adenocarcinomas of the esophagus and gastric cardia in humans. *J Nutr* 2002;132(11 Suppl):3467S-70S.

McColl KE, El-Omar E. How does *H. pylori* infection cause gastric cancer? *Keio J Med* 2002;51 (Suppl 2):53-6.

McCullough ML, Robertson AS, Jacobs EJ, Chao A, Calle EE, Thun MJ. A prospective study of diet and stomach cancer mortality in United States men and women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001;10(11):1201-5.

Mullis K, Faloona F, Scharf S, Saiki R, Horn G, Erlich H. Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. 1986. *Biotechnology* 1992;24:17-27.

Nardone G. Review article: molecular basis of gastric carcinogenesis. *Aliment Pharmacol Ther* 2003;17 Suppl 2:75-81.

Pajares JM. Helicobacter pylori infection and gastric cancer in Spain. *Hepatogastroenterology* 2001;48(42):1556-9.

Perera FP, Weinstein IB. Molecular epidemiology: recent advances and future directions. *Carcinogenesis* 2000;21(3):517-24.

Raj A, Mayberry JF, Podas T. Occupation and gastric cancer. *Postgrad Med J* 2003;79(931):252-8.

Roder DM. The epidemiology of gastric cancer. *Gastric Cancer* 2002;5(Suppl 1):5-11.

Rodríguez A, Alvarado J, Sandler RS, Ani ACaGG. Asociación entre infección por Helicobacter pylori y cáncer gástrico en Colombia. *Acta Médica Colombiana* 2000;25:112-6.

Scartozzi M, Galizia E, Freddari F, Berardi R, Cellerino R, Cascinu S. Molecular biology of sporadic gastric cancer: prognostic indicators and novel therapeutic approaches. *Cancer Treat Rev* 2004;30(5):451-9.

Sepulveda AR, Graham DY. Role of Helicobacter pylori in gastric carcinogenesis. *Gastroenterol Clin North Am* 2002;31(2):517-35, x.

Shang J, Pena AS. Multidisciplinary approach to understand the pathogenesis of gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2005;11(27):4131-9.

Shen H, Wang X, Hu Z, Zhang Z, Xu Y, Hu X, Guo J, Wei Q. Polymorphisms of DNA repair gene XRCC3 Thr241Met and risk of gastric cancer in a Chinese population. *Cancer Lett* 2004;206(1):51-8.

Shen H, Xu Y, Qian Y, Yu R, Qin Y, Zhou L, Wang X, Spitz MR, Wei Q. Polymorphisms of the DNA repair gene XRCC1 and risk of gastric cancer in a Chinese population. *Int J Cancer* 2000;88(4):601-6.

Shen M, Hung RJ, Brennan P, Malaveille C, Donato F, et al. Polymorphisms of the DNA repair genes XRCC1, XRCC3, XPD, interaction with environmental exposures, and bladder cancer risk in a case-control study in northern Italy. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2003;12(11 Pt 1):1234-40.

Shu XO, Cai Q, Gao YT, Wen W, Jin F, Zheng W. A population-based case-control study of the Arg399Gln polymorphism in DNA repair gene XRCC1 and risk of breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2003;12(12):1462-7.

Stadtlander CT, Waterbor JW. Molecular epidemiology, pathogenesis and prevention of gastric cancer. *Carcinogenesis* 1999;20(12):2195-208.

Sturgis EM, Castillo EJ, Li L, Zheng R, Eicher SA, Clayman GL, Strom SS, Spitz MR, Wei Q. Polymorphisms of DNA repair gene XRCC1 in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Carcinogenesis* 1999;20(11):2125-9.

- Sukhanova MV, Khodyreva SN, Lebedeva NA, Prasad R, Wilson SH, Lavrik OI. Human base excision repair enzymes apurinic/apyrimidinic endonuclease1 (APE1), DNA polymerase beta and poly(ADP-ribose) polymerase 1: interplay between strand-displacement DNA synthesis and proofreading exonuclease activity. *Nucleic Acids Res* 2005;33(4):1222-9.
- Tsugane S, Sasazuki S, Kobayashi M, Sasaki S. Salt and salted food intake and subsequent risk of gastric cancer among middle-aged Japanese men and women. *Br J Cancer* 2004;90(1):128-34.
- van Gils CH, Bostick RM, Stern MC, Taylor JA. Differences in base excision repair capacity may modulate the effect of dietary antioxidant intake on prostate cancer risk: an example of polymorphisms in the XRCC1 gene. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2002;11(11):1279-84.
- Van Zanten SJ, Dixon MF, Lee A. The gastric transitional zones: neglected links between gastroduodenal pathology and helicobacter ecology. *Gastroenterology* 1999;116(5):1217-29.
- Vidal AE, Boiteux S, Hickson ID, Radicella JP. XRCC1 coordinates the initial and late stages of DNA abasic site repair through protein-protein interactions. *EMBO J* 2001;20(22):6530-9.
- Walsh PS, Metzger DA, Higuchi R. Chelex 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. *Biotechniques* 1991;10(4):506-13.
- Wang Y, Spitz MR, Zhu Y, Dong Q, Shete S, Wu X. From genotype to phenotype: correlating XRCC1 polymorphisms with mutagen sensitivity. *DNA Repair (Amst)* 2003;2(8):901-8.
- Weinberg RA. How cancer arises. *Sci Am* 1996;275(3):62-70.
- Werner M, Becker KF, Keller G, Hofler H. Gastric adenocarcinoma: pathomorphology and molecular pathology. *J Cancer Res Clin Oncol* 2001;127(4):207-16.
- Wild CP, Law GR, Roman E. Molecular epidemiology and cancer: promising areas for future research in the post-genomic era. *Mutat Res* 2002;499(1):3-12.
- Wong D, DeMott MS, Demple B. Modulation of the 3'--&gt;5'-exonuclease activity of human apurinic endonuclease (Ape1) by its 5'-incised Abasic DNA product. *J Biol Chem* 2003;278(38):36242-9.
- Woodward M, Tunstall-Pedoe H, McColl K. Helicobacter pylori infection reduces systemic availability of dietary vitamin C. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2001;13(3):233-7.
- Xing D, Qi J, Miao X, Lu W, Tan W, Lin D. Polymorphisms of DNA repair genes XRCC1 and XPD and their associations with risk of esophageal squamous cell carcinoma in a Chinese population. *Int J Cancer* 2002;100(5):600-5.

Yeh CC, Sung FC, Tang R, Chang-Chieh CR, Hsieh LL. Polymorphisms of the XRCC1, XRCC3, & XPD genes, and colorectal cancer risk: a case-control study in Taiwan. BMC Cancer 2005;5:12.

## **ANEXOS**

## Anexo A. Consentimiento informado

GCP # \_\_\_\_\_

GCC # \_\_\_\_\_

### CONSENTIMIENTO INFORMADO

Entiendo que se me ha pedido que participe como sujeto en una investigación llamada "Epidemiología Molecular del Cáncer Gástrico en el Suroccidente Colombiano" bajo la dirección del Dr. Hernán Sierra, y sus colaboradores en la Universidad del Cauca, Popayán.

PROPÓSITO: El propósito de este estudio es mejorar el conocimiento acerca de cómo los factores genéticos y ambientales interactúan para incrementar la susceptibilidad al cáncer gástrico en la población del Sur-occidente Colombiano.

PROCEDIMIENTOS: Entiendo que completaré un cuestionario sobre estilo de vida y estado de salud. Si califico para participar en el estudio, yo donaré una muestra de sangre de aprox. 10 ml. obtenidos de la vena de mi brazo, para extracción del material genético (ADN). Al igual que una biopsia de tejido gástrico para extracción del material genético. Si mi participación en el estudio se hace como caso, adicionalmente permitiré se me tome una biopsia para análisis histopatológico, y caracterización de *H. pylori*. Todas las muestras serán tomadas, por profesionales calificados, de acuerdo a mi condición de caso o control.

NUMERO DE PARTICIPANTES: El número aproximado será de 250 casos y 500 controles.

BENEFICIOS AL SUJETO: Entiendo que no recibiré beneficio directo por mi participación voluntaria en este estudio. Los datos del estudio serán confidenciales y no me podrán ser relevados ya que este estudio es de tipo poblacional, y no diagnóstico, y por lo tanto sus conclusiones solo serán extrapolados a la población total (750 sujetos).

BENEFICIOS A LA SOCIEDAD: El beneficio a la sociedad será la información obtenida acerca de los factores que introducen susceptibilidad al desarrollo de cáncer gástrico, con el fin de mejorar la prevención y el tratamiento en futuros pacientes con esta enfermedad.

RIESGOS POR PARTICIPACIÓN: Entiendo que como riesgos potenciales de mi participación en este estudio son sangrado o infección en los sitios de toma de muestras, los cuales serán evitados mediante el uso de técnicas asépticas por personal clínico calificado y experimentado.

CONFIDENCIALIDAD: Entiendo que la información del cuestionario y todas las muestras serán identificadas con un código para proteger mi nombre y datos personales. Esta información será mantenida bajo estricta confidencialidad por parte del investigador principal (Dr. Sierra).

#### CLAUSULAS ESTANDAR:

Entiendo que el consentimiento voluntario es requerido para todas las personas en este proyecto. Los procedimientos principales, incluyendo los procedimientos experimentales han sido expuestos y me los han explicado en un lenguaje que yo puedo entender. Me han explicado los riesgos e incomodidades de los procedimientos. Me han explicado los beneficios de este estudio. Me han ofrecido responder a todas las preguntas que yo pueda tener acerca de los procedimientos antes de ingresar al estudio. Si tengo una pregunta durante o después del procedimiento puedo contactar al Dr. Hernán Sierra al Tel. 8209872.

Me han dicho que la Universidad del Cauca no tiene mecanismos de compensación si algún daño físico ocurriera como resultado directo de esta investigación para los sujetos de investigación. Sin embargo, entiendo que tratamientos de emergencia disponibles para el público en general están disponibles para mi también. Yo tengo el derecho a la privacidad y confidencialidad de toda la información obtenida con relación a este estudio. La información obtenida de este estudio que pueda identificarme será sólo aportada al investigador principal, quien podrá tener acceso a mi historia clínica si es necesario. Los resultados de este estudio pueden ser divulgados en eventos nacionales y/o internacionales ó ser publicados en revistas científicas sin identificarme por mi nombre.

Acepto voluntariamente participar como sujeto de investigación en el proyecto antes mencionado. Entiendo que se me dará una copia de este consentimiento.

\_\_\_\_\_  
Fecha

\_\_\_\_\_  
Firma del sujeto

Usando un lenguaje apropiado y comprensible he discutido este proyecto y los siete puntos anteriores con el sujeto y su representante autorizado o con ambos.

\_\_\_\_\_  
Fecha

\_\_\_\_\_  
Firma del Director del Proyecto

## Anexo B. Encuesta

UNIVERSIDAD DEL CAUCA  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FISIOLÓGICAS  
LABORATORIO DE GENÉTICA HUMANA

GCP # \_\_\_\_\_

GCC # \_\_\_\_\_

### EPIDEMIOLOGÍA MOLECULAR DEL ADENOCARCINOMA GÁSTRICO EN EL SUROCCIDENTE COLOMBIANO

FECHA: [\_\_\_\_][\_\_\_\_][\_\_\_\_] HORA DE INICIO DE LA ENTREVISTA: [\_\_\_\_]

#### SECCIÓN A. INFORMACIÓN PERSONAL

A1. STATUS: CASO \_\_\_\_\_ CONTROL \_\_\_\_\_

A2. DOCUMENTO DE IDENTIDAD \_\_\_\_\_

A3. HISTORIA CLÍNICA #: \_\_\_\_\_ CLÍNICA  HSLV  HUSJ

A4. NOMBRES Y APELLIDOS  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

A5. TELÉFONO \_\_\_\_\_

A6. DIRECCIÓN PERMANENTE  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

A7. PROCEDENCIA:

A7.1. DEPARTAMENTO \_\_\_\_\_

A7.2. MUNICIPIO \_\_\_\_\_

- 1. URBANA
- 2. RURAL CABECERA
- 3. RURAL DISPERSO

VDA/ \_\_\_\_\_

A8. LUGAR DE NACIMIENTO:

A8.1. DEPARTAMENTO \_\_\_\_\_

A8.2. MUNICIPIO \_\_\_\_\_

- 1. URBANA
- 2. RURAL CABECERA
- 3. RURAL DISPERSO

VDA/ \_\_\_\_\_

A9. EN QUE LUGAR HA VIVIDO POR MAS AÑOS?

A9.1. DEPARTAMENTO \_\_\_\_\_

A9.2. MUNICIPIO \_\_\_\_\_

- 1. URBANA
- 2. RURAL CABECERA
- 3. RURAL DISPERSO

VDA/ \_\_\_\_\_

A10. CUANTOS AÑOS HA VIVIDO ALLI? [\_\_\_\_]

A11. EDAD: [\_\_\_\_]

A12. FECHA DE NACIMIENTO: [\_\_\_\_][\_\_\_\_][\_\_\_\_]

A13. SEXO:

- 1. MASCULINO
- 2. FEMENINO

A14. ETNIA:

- 1. INDÍGENA
- 2. BLANCA
- 3. NEGRA
- 4. MESTIZA
- 5. MULATA

A15. AFILIACIÓN AL SIST. SEGURIDAD SOCIAL:

- 1. VINCULADO
- 2. SUBSIDIADO
- 3. COTIZANTE

A16. ESTADO CIVIL ACTUAL (INDISTINTAMENTE DEL ESTADO LEGAL):

- 1. CASADO(A)
- 2. SOLTERO(A)
- 3. UNION LIBRE
- 4. SEPARADO(A)/DIVORCIADO(A)
- 5. VIUDO(A)

A17. EN CUANTO CALCULARIA USTED SUS INGRESOS MENSUALES?

- 1. MENOS DE UN SALARIO MINIMO
- 2. UN SALARIO MINIMO
- 3. MAS DE UN SALARIO MINIMO

#### SECCION B. EDUCACION Y OFICIO

B1. SABE USTED LEER?

- 1. SI
- 0. NO

B2. SABE USTED ESCRIBIR?

- 1. SI
- 0. NO



**B3. CUANTOS AÑOS HA IDO USTED A LA ESCUELA?**

[\_\_\_\_\_]

**B4. ULTIMO NIVEL EDUCATIVO:**

1. NINGUNO       2. PRIMARIO   
3. SECUNDARIO       4. TECNICO   
5. UNIVERSITARIO       6. POSGRADO

**B5. OCUPACIÓN, TRABAJO O ACTIVIDAD ACTUAL:**

\_\_\_\_\_

**B6. OCUPACIÓN EN LA QUE HA TRABAJADO POR MAS TIEMPO:**

\_\_\_\_\_

**B8. HA UTILIZADO PESTICIDAS?**

1. SI

2. NO

CUALES? \_\_\_\_\_

0. NS/NR

**B9. ESTIME POR CUANTO TIEMPO HA ESTADO (ESTUVO) EXPUESTO A ESTOS PRODUCTOS? [\_\_\_\_\_]**

**SECCION C. CARACTERISTICAS DE LA VIVIENDA**

**C1. TIPO DE PISOS QUE PREDOMINAN EN SU CASA:**

1. TIERRA   
2. CEMENTO   
3. TIERRA Y CEMENTO   
4. BALDOSA   
5. MEZCLA DE VARIOS TIPOS   
6. OTROS (ESPECIFICAR) \_\_\_\_\_

**C2. PERSONAS VIVEN EN SU CASA (TOMANDO EN CUENTA NIÑOS PEQUEÑOS Y RECIÉN NACIDOS): [\_\_\_\_\_]**

**C3. NUMERO DE HABITACIONES DE DORMIR EN SU CASA: [\_\_\_\_\_]**

**C4. NUMERO DE CAMAS EN SU CASA: [\_\_\_\_\_]**

**C5. DE DONDE OBTIENE EL AGUA PARA BEBER O COCINAR?**

1. ACUEDUCTO  
2. POZO O ALJIBE   
3. RIO O MANANTIAL   
4. CAMION CISTERNA   
5. AGUA MINERAL   
6. OTRO  \_\_\_\_\_

**C6. QUE TRATAMIENTO LE DAN GENERALMENTE AL AGUA?**

1. NINGUNO   
2. HERVIDO   
3. FILTRADO   
4. FILTRADO Y HERVIDO   
5. OTRO (ESPECIFICAR) \_\_\_\_\_

**C7. DONDE DISPONEN GENERALMENTE EN SU CASA LAS EXCRETAS?**

1. SANITARIO   
2. POZO SEPTICO / LETRINA   
3. CAMPO ABIERTO

#### **SECCIÓN D. ANTECEDENTES FAMILIARES**

**D1. PODRÍA USTED DECIRNOS SI ALGUNO DE SUS PARIENTES CERCANOS (PADRES, HERMANOS, HIJOS, TIOS) HA TENIDO ALGUNA DE LAS SIGUIENTES ENFERMEDADES?**

ENFERMEDAD	MAMA (1)	PAPA (2)	HERMANOS (3)	ABUELOS (4)	HIJOS (5)	TIOS (6)
ULCERA DE DUODENO (1)	11	21	31	41	51	61
ULCERA DE ESTOMAGO (2)	12	22	32	42	52	62
CÁNCER DE ESTOMAGO (3)	13	23	33	43	53	63
CÁNCER DE ESOFAGO (4)	14	24	34	44	54	64
CÁNCER DE COLON (5)	15	25	35	45	55	65
OTRO CÁNCER (ESPECIFICAR) (6)	16	26	36	46	56	66

**NINGUNO 0 ( )**

#### **SECCIÓN E. ANTECEDENTES CLÍNICOS**

**E1. EN EL ÚLTIMO AÑO HA SUFRIDO USTED DE...?**

- 1. ARDOR
- 2. DOLOR
- 3. VÓMITO
- 4. LLENURA FÁCIL
- 5. ANOREXIA
- 6. PÉRDIDA DE PESO
- 7. ANEMIA
- 0. NINGUNA

**E2. ENDOSCOPIA PREVIA?**

- 1. SI
- 0. NO
- 2. NS/NR

**E3. CUÁL FUÉ EL RESULTADO?**

- 1. GASTRITIS CRÓNICA
- 2. ULCERA GÁSTRICA
- 3. ULCERA DUODENAL
- 4. ATROFIA (GASTRITIS ATRÓFICA)
- 5. METAPLASIA
- 6. DISPLASIA
- 0. NINGUNA

**E4. SE LE DETECTO H. PYLORI?**

- 1. SI
- 0. NO
- 2. NS/NR

**E5. SE HA SOMETIDO A TRATAMIENTO DE H. PYLORI EN EL ÚLTIMO AÑO?**

- 1. SI
- 0. NO
- 2. NS/NR

**E6. HA TOMADO ANTIBIÓTICOS/METRONIDAZOL EN EL ÚLTIMO AÑO?**

- 1. SI
- 0. NO
- 2. NS/NR

#### **SECCIÓN F. DIAGNÓSTICO DE CÁNCER GÁSTRICO**

**F1. LOCALIZACIÓN:**

- 1 CUERPO
- 2. ANTRO
- 3. FONDO
- 4. GDISTAL

**F2. CLASIFICACIÓN MORFOLÓGICA:**

- 1. INCIPIENTE
- 2. AVANZADO

**F3. CLASIFICACIÓN PATOLÓGICA:**

- 1. INTESTINAL
- 2. DIFUSO
- 3. MIXTO

## **SECCION G. HABITOS DE FUMAR**

### **G1. RESPECTO AL HABITO DE FUMAR USTED ES?**

- 0. NO FUMADOR
- 1. FUMADOR ACTUAL\*
- 2. EX-FUMADOR\*\*
- 3. FUMADOR OCASIONAL
- 4. EX-FUMADOR OCASIONAL
- 5. FUMADOR PASIVO
- 6. NO RESPONDE

\* FUMA AL MENOS 1 CIGARRILLO AL DIA Y/O UN TABACO POR SEMANA DURANTE AL MENOS 1 AÑO.

\*\* FUMADOR QUE DEJO DE FUMAR AL MENOS 1 AÑO ANTES DE LA ENTREVISTA

**G2. DURANTE CUANTOS AÑOS HA FUMADO (FUMO) EN TOTAL? [\_\_\_\_\_]**

**G3. CUANTOS CIGARRILLOS POR DIA FUMA (FUMABA)? [\_\_\_\_\_]**

---

## **SECCION H. CONSUMO DE ALCOHOL**

### **H1. ACOSTUMBRA O ACOSTUMBRABA USTED TOMAR BEBIDAS ALCOHÓLICAS?**

- 1. SI, BEBO HABITUALMENTE TODOS LOS DIAS
- 2. SI, BEBO HABITUALMENTE LOS FINES DE SEMANA
- 3. SI, BEBO DE VEZ EN CUANDO, EN FIESTAS O VISITAS
- 4. SI, BEBO MUY RARAMENTE (PARA NAVIDAD, FERIA)
- 5. ANTES BEBIA PERO AHORA NO
- 0. NUNCA BEBO NI HE BEBIDO

**H2. CUANTOS AÑOS HA CONSUMIDO (CONSUMIO)? [\_\_\_\_\_]**

**H3. A QUE EDAD INICIO A BEBER? [\_\_\_\_\_]**

**H4. NOS PUEDE DETALLER QUE CONSUME EN MAYOR CANTIDAD?**

- 1. CERVEZA
- 2. RON
- 3. AGUARDIENTE CASERO
- 4. AGUARDIENTE COMERCIAL
- 5. WHISKY
- 6. OTROS (ESPECIFICAR) \_\_\_\_\_

---

## **SECCIÓN I. HÁBITOS ALIMENTICIOS**

**I1. CUANTAS COMIDAS HACE USTED, REGULARMENTE, AL DIA? [\_\_\_\_\_]**

**I2. DONDE?**

- 1. CASA TODAS
- 2. RESTAURANTE TODAS
- 3. CASA Y RESTAURANTE

**I3. CON QUÉ FRECUENCIA CONSUME ALIMENTOS AHUMADOS (CARNES , PESCADO), EN BRASA O HUMO?**

- 0. NUNCA
- 1. DIARIO
- 2. 1 VEZ PORSEMANA
- 3. 1 O 2 VECES POR MES
- 4. 1 A 6 VECES POR AÑO

**I4. CON QUÉ FRECUENCIA CONSUME ALIMENTOS PRESERVADOS CON SAL?**

- 0. NUNCA
- 1. DIARIO

- 2. 1 VEZ PORSEMANA
- 3. 1 O 2 VECES POR MES
- 4. 1 A 6 VECES POR AÑO

**I5. CON QUÉ FRECUENCIA CONSUME HABAS?**

- 0. NUNCA
- 1. DIARIO
- 2. 1 VEZ PORSEMANA
- 3. 1 O 2 VECES POR MES
- 4. 1 A 6 VECES POR AÑO

**I6. CON QUÉ FRECUENCIA CONSUME CARBOHIDRATOS?  
(ARROZ, LENTEJA, FRIJOL, ETC)?**

- 0. NUNCA
- 1. DIARIO
- 2. 1 VEZ PORSEMANA
- 3. 1 O 2 VECES POR MES
- 4. 1 A 6 VECES POR AÑO

- 2. 1 VEZ PORSEMANA
- 3. 1 O 2 VECES POR MES
- 4. 1 A 6 VECES POR AÑO

**I7. CON QUÉ FRECUENCIA CONSUME PROTEÍNAS  
ANIMALES (CARNE, POLLO, PESCADO)?**

- 0. NUNCA
- 1. DIARIO
- 2. 1 VEZ PORSEMANA
- 3. 1 O 2 VECES POR MES
- 4. 1 A 6 VECES POR AÑO

**I10. CON QUÉ FRECUENCIA CONSUME CAFÉ?**

- 0. NUNCA
- 1. DIARIO
- 2. 1 VEZ PORSEMANA
- 3. 1 O 2 VECES POR MES
- 4. 1 A 6 VECES POR AÑO

**I8. CON QUÉ FRECUENCIA CONSUME FRUTAS?**

- 0. NUNCA
- 1. DIARIO
- 2. 1 VEZ PORSEMANA
- 3. 1 O 2 VECES POR MES
- 4. 1 A 6 VECES POR AÑO

**I11. CON QUÉ FRECUENCIA CONSUME GASEOSAS?**

- 0. NUNCA
- 1. DIARIO
- 2. 1 VEZ PORSEMANA
- 3. 1 O 2 VECES POR MES
- 4. 1 A 6 VECES POR AÑO

**I9. CON QUÉ FRECUENCIA CONSUME VERDURAS Y  
HORTALIZAS?**

- 0. NUNCA
- 1. DIARIO

**I12. CON QUÉ FRECUENCIA CONSUME TÉ?**

- 0. NUNCA
- 1. DIARIO
- 2. 1 VEZ PORSEMANA
- 3. 1 O 2 VECES POR MES
- 4. 1 A 6 VECES POR AÑO

**I13. HA CAMBIADO SU CONSUMO DE LOS SIGUIENTES  
PRODUCTOS, EN LOS ULTIMOS 10 AÑOS?**

	SI, COMO MENOS (1)	SI, COMO MAS (2)	NO, COMO IGUAL (3)	NO SABE (4)
CARNE (1)	11	12	13	14
VERDURA CRUDA (2)	21	22	23	24
FRUTA FRESCA ENTERA (3)	31	32	33	34
SAL (4)	41	42	43	44

-----  
 -----  
 -----

**SECCION J. CONDIMENTOS****J1. HABITUALMENTE EN LA MESA, CUANTA SAL CONSUME CON LA COMIDA?**

	SIEMPRE (1)	ALGUNAS VECES (2)	NUNCA (0)
DONDE USTED COME COCINAN CON SAL? (1)			
USTED ANADE SAL A LA COMIDA?			

**J2. PARA CADA UNO DE LOS SIGUIENTES CONDIMENTOS, ESPECIFIQUE LA FRECUENCIA DE CONSUMO.**

	NUNCA (0)	DIARIO (1)	1 VEZ POR SEMANA (2)	1 O 2 VECES POR MES (3)	1 A 6 VECES POR AÑO (4)
AJI CASERO					
AJI COMERCIAL					
PIMIENTA					
PIMENTÓN					
AJO					
CEBOLLA					
ACHIOTE					
HIERBAS					
CUBITO					

**SECCION K. ACEITES****K1. DE LOS SIGUIENTES TIPOS DE MANTECA O ACEITE CUALES SE USAN NORMALMENTE PARA COCINAR, DONDE USTED COME?**

	SI (1)	NO (0)	NS/NR (2)
MANTECA VEGETAL			
MANTECA ANIMAL			
MARGARINA			
MANTEQUILLA			
ACEITE VEGETAL MIXTO (MAIZ, AJONJOLÍ, ALGODÓN, GIRASOL)			
OTROS (ESPECIFICAR)			

**K2. PODRIA DECIRNOS COMO SUELE USTED CONSERVAR LA CARNE Y/O PESCADO ANTES DE COCINARLOS?**

	SIEMPRE (1)	HABITUALMENTE (2)	OCASIONALMENTE (3)	NUNCA (0)
SALADA-OREADA (1)	11	12	13	14
SALADA-AHUMADA (2)	21	22	23	24
FRESCA (3)	31	32	33	34

**SECCION L. CONSERVACION****L1. DONDE ALMACENA HABITUALMENTE LOS SIGUIENTES PRODUCTOS?**

	DESPENSA (1)	NEVERA (2)	CONGELADOR (3)	OTROS (ESPECIFICAR) (4)	NO ALMACENA (0)	NS/NR (5)
LECHE DE VACA (1)	11	12	13	14	15	10
CARNES (2)	21	22	23	24	25	20
HORTALIZAS (3)	31	32	33	34	35	30
FRUTA FRESCA (4)	41	42	43	44	45	40

**L2. CONSUME GENERALMENTE PLATOS RE-  
CALENTADOS?**

- 0. NUNCA
- 1. DIARIO
- 2. 1 VEZ PORSEMANA
- 3. 1 O 2 VECES POR MES
- 4. 1 A 6 VECES POR AÑO

**L3. DESPUÉS DE FREIR LOS ALIMENTOS, GUARDA EL  
ACEITE PARA FREIR DE NUEVO O PARA PREPARAR  
OTROS PLATOS?**

- 1. SI, SIEMPRE
- 2. SI, OCASIONALMENTE
- 0. NUNCA
- 3. NS/NR

**L4. CON QUE COCINA EN SU CASA LOS ALIMENTOS?**

- 1. KEROSENE
- 2. LENA
- 3. GAS
- 4. CARBON
- 5. ELECTRICIDAD
- 6. OTROS
- 0. NS/NR

---

**SECCION M. OTROS**

**M1. ESTA TOMANDO EN LA ACTUALIDAD ALGUN  
MEDICAMENTO O REMEDIO?**

- 1. SI (ESPECIFIQUE) \_\_\_\_\_
- 0. NO
- 2. NS/NR

**M2. TOMA HABITUALMENTE ALGUNO DE LOS  
SIGUIENTES MEDICAMENTOS?**

	SI (1)	NO (0)	NS/NR (2)
ASPIRINAS			
ALKASELTZER			
VITAMINAS			

**M3. SE HACE USTED CHEQUEOS MEDICOS PERIODICOS?**

- 1. SI
- 0. NO
- 2. NS/NR

**HORA DE FIN DE LA ENTREVISTA: [ \_\_\_\_ ]**

**NOMBRE Y FIRMA DEL ENTREVISTADOR:**

---