

**ASOCIACIÓN DE LOS POLIMORFISMOS GENÉTICOS DE LOS FACTORES:  
INHIBIDOR DE MIGRACIÓN DE MACRÓFAGOS (MIF) Y NECROSIS  
TUMORAL (TNF- $\alpha$ ) CON LESIONES PRENEOPLÁSICAS GÁSTRICAS EN UNA  
POBLACIÓN DEL DEPARTAMENTO DEL CAUCA**



**SONIA MARGARITA MARÍA TRIVIÑO ARANGO**

UNIVERSIDAD DEL CAUCA  
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN  
PROGRAMA DE BIOLOGÍA  
POPAYÁN - CAUCA  
2011

**ASOCIACIÓN DE LOS POLIMORFISMOS GENÉTICOS DE LOS FACTORES:  
INHIBIDOR DE MIGRACIÓN DE MACRÓFAGOS (MIF) Y NECROSIS  
TUMORAL (TNF- $\alpha$ ) CON LESIONES PRENEOPLÁSICAS GÁSTRICAS EN UNA  
POBLACIÓN DEL DEPARTAMENTO DEL CAUCA**

TRABAJO DE GRADO PARA OPTAR AL TÍTULO DE BIÓLOGA

**SONIA MARGARITA MARÍA TRIVIÑO ARANGO**

DIRECTOR:

Esp. ROSA ELVIRA ALVAREZ R.  
Docente Departamento Ciencias Fisiológicas  
Facultad Ciencias de la Salud  
Universidad del Cauca

ASESOR:

PhD. CARLOS HERNAN SIERRA T.  
Docente Departamento Ciencias Fisiológicas  
Facultad Ciencias de la Salud  
Universidad del Cauca

UNIVERSIDAD DEL CAUCA  
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN  
PROGRAMA DE BIOLOGÍA  
POPAYÁN - CAUCA  
2011

Nota de aceptación

---

---

---

---

Esp. Rosa Elvira Álvarez R.

---

MSc. Edna Lourdes Orozco

---

MD. Harold Jofre Bolaños

Popayán, 24 de febrero de 2011

*Hoy se cumplió mi sueño, el ver el de ustedes  
cumplido... Con todo mi corazón...  
A mí Abue, a mi mamá, papá,  
Daní, Viví, Hugo y Luísita!*

*Mis más sinceros agradecimientos a todos aquellos que hicieron de este su propio logro... en especial a mi familia quienes me apoyaron en todo y me dan cada día lo mejor de sí para salir adelante. También doy gracias a Camilo, por su amor, apoyo y porque a pesar de muchas situaciones siempre mi bienestar y mi felicidad fue lo más importante para él.*

*Este proyecto en el que culmina una etapa de mi carrera es el resultado del trabajo de un equipo de personas a las cuales les debo todo mi agradecimiento por la acogida, apoyo incondicional, dedicación, ánimo y trabajo decidido por este reto; por ello agradezco al Grupo de Genética Humana y a cada uno de sus integrantes, Dr. Hernan, la profe Sulmita , la profe Paty, Aleja, Lore, Yexa y Walter, por haber confiado en mí para trabajar con ustedes, por el tiempo que me han dedicado, por sus palabras de aliento, por todo aquello que en este espacio es imposible condensar pero que usted y yo conocemos. Reconozco especialmente a mi directora de trabajo la Profe Rosita, quien me apoyo en todo este proceso para culminar mi trabajo.*

*Doy gracias a Dios de permitirme tener valiosas personas a mi lado en el transcurso de toda mi carrera, quienes con sus palabras de apoyo y cariño hicieron de este proceso una de las mejores experiencias de mi vida, por esto hoy le agradezco a July quien fue la mejor compañera de trabajo y amiga que la vida me pudo dar... y a todos aquellos que de uno u otra manera contribuyeron a mi crecimiento como persona y como profesional, mil GRACIAS....*

*Margarita T.*

## TABLA DE CONTENIDO

|   | Pág. |
|---|------|
| RESUMEN.....  | 13   |
| INTRODUCCIÓN.....   | 14   |
| 1. JUSTIFICACIÓN.....   | 16   |
| 2. MARCO TEÓRICO.....   | 19   |
| 2.1 HISTORIA NATURAL DE LA ENFERMEDAD.....                                  | 19   |
| 2.1.1 Lesiones preneoplásicas.....  | 20   |
| 2.1.2 Cáncer gástrico.....  | 21   |
| 2.2 <i>Helicobacter pylori</i> .....  | 23   |
| 2.3 RESPUESTA INFLAMATORIA.....   | 25   |
| 2.4 CITOQUINAS DE INFLAMACIÓN.....  | 28   |
| 2.4.1 Factor de Necrosis Tumoral (TNF- $\alpha$ ).....                      | 30   |
| 2.4.2 Factor Inhibidor de Migración de Macrófagos (MIF).....                | 35   |
| 2.5 MARCADORES GENÉTICOS: POLIMORFISMOS DE NUCLEÓTIDO<br>SIMPLE (SNPs)..... | 42   |
| 3. OBJETIVOS.....   | 45   |
| 3.1 OBJETIVO GENERAL.....   | 45   |
| 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....  | 45   |
| 4. METODOLOGÍA Y DISEÑO EXPERIMENTAL.....                                   | 46   |
| 4.1 POBLACIÓN DE ESTUDIO.....   | 46   |

|   |    |
|---|----|
| 4.2 PRUEBAS MOLECULARES .....   | 46 |
| 4.2.1 Genotipificación de TNF $\alpha$ -308 G/A.....  | 46 |
| 4.2.2 Genotipificación de TNF $\alpha$ -238 G/A.....  | 49 |
| 4.2.3 Genotipificación de MIF-173 G/C .....   | 52 |
| 4.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....   | 55 |
| 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....   | 57 |
| 5.1 CARACTERÍSTICAS SOCIODEMOGRAFICAS DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO.....   | 57 |
| 5.2 FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS AL DESARROLLO DE LESIONES PRECANCEROSAS GÁSTRICAS.....                                       | 61 |
| 5.3 SNPs: MIF-173 G/C, TNF $\alpha$ -308 G/A y TNF $\alpha$ -238 G/A EN PACIENTES CON LESIONES PRENEOPLÁSICAS GÁSTRICAS ..... | 68 |
| 5.3.1 Polimorfismo MIF-173 G/C (rs755622).....  | 69 |
| 5.3.2 Polimorfismos TNF $\alpha$ -308 G/A (rs1800629) y TNF $\alpha$ -238 G/A (rs361525).....                                 | 72 |
| 6. CONCLUSIONES .....   | 77 |
| 7. RECOMENDACIONES.....   | 78 |
| 8. BIBLIOGRAFÍA.....  | 79 |

## LISTA DE TABLAS

|  | Pág. |
|--|------|
| <b>Tabla 1.</b> Citoquinas asociadas con el desarrollo de cáncer gástrico y lesiones gástricas precancerosas.....  | 29   |
| <b>Tabla 2.</b> Referencia del SNP TNF $\alpha$ -308 rs1800629.....  | 33   |
| <b>Tabla 3.</b> Referencia del SNP TNF $\alpha$ -238 rs361525.....   | 33   |
| <b>Tabla 4.</b> Frecuencia de los genotipos G/G, G/A y A/A en la población para el SNP rs1800629.....  | 34   |
| <b>Tabla 5.</b> Frecuencia de los genotipos G/G, G/A y A/A en la población para el SNP rs361525.....   | 35   |
| <b>Tabla 6.</b> Referencia del SNP MIF-173 rs755622.....   | 40   |
| <b>Tabla 7.</b> Frecuencia de los genotipos G/G, G/C y C/C en la población para el SNP rs755622.....   | 41   |
| <b>Tabla 8a.</b> Características socio-demográficas: sexo, edad y área de procedencia de la población de estudio.....  | 59   |
| <b>Tabla 8b.</b> Características socio-demográficas: ingresos mensuales, nivel de educación y ocupación de la población de estudio.....  | 60   |
| <b>Tabla 9a.</b> Prevalencia de factores de riesgo asociados al desarrollo de lesiones preneoplásicas gástricas en la población de estudio (fumar y consumo de alcohol).....                   | 63   |
| <b>Tabla 9b.</b> Prevalencia de factores de riesgo asociados al desarrollo de lesiones preneoplásicas gástricas en la población de estudio (ingesta de sal y consumo de carnes ahumadas).....  | 64   |
| <b>Tabla 9c.</b> Prevalencia de factores de riesgo asociados al desarrollo de lesiones preneoplásicas gástricas en la población de estudio (consumo de frutas y de verduras).....              | 65   |
| <b>Tabla 9d.</b> Prevalencia de factores de riesgo asociados al desarrollo de lesiones preneoplásicas gástricas en la población de estudio (Tipo de piso y número de personas en la casa)..... | 66   |



|  |           |
|--|-----------|
| <b>Tabla 9e.</b> Prevalencia de factores de riesgo asociados al desarrollo de lesiones preneoplásicas gástricas en la población de estudio (Obtención y tratamiento de agua para el consumo y excretas)..... | <b>67</b> |
| <b>Tabla 9f.</b> Prevalencia de factores de riesgo asociados al desarrollo de lesiones preneoplásicas gástricas en la población de estudio (combustible con que cocinan y antecedentes familiares).....      | <b>68</b> |
| <b>Tabla 10.</b> Frecuencia del Genotipo G/C del polimorfismo MIF-173 en la población de estudio.....  | <b>69</b> |
| <b>Tabla 11.</b> Frecuencia del Genotipo G/A del polimorfismo TNF $\alpha$ -308 en la población de estudio.....  | <b>70</b> |
| <b>Tabla 12.</b> Polimorfismo MIF-173 G/C y su asociación con el riesgo de desarrollar lesiones preneoplásicas gástricas en la población de estudio. ....  | <b>71</b> |
| <b>Tabla 13.</b> Frecuencia del Genotipo G/A del polimorfismo TNF $\alpha$ -308 en la población de estudio.....  | <b>72</b> |
| <b>Tabla 14.</b> Frecuencia de los genotipos para el polimorfismo TNF $\alpha$ -308 G/A en pacientes con lesiones preneoplásicas gástricas en la población de estudio y H.W.....                             | <b>73</b> |
| <b>Tabla 15.</b> Polimorfismo TNF $\alpha$ -308 G/A y su asociación con el riesgo de desarrollar lesiones preneoplásicas gástricas en la población de estudio .....  | <b>74</b> |
| <b>Tabla 16.</b> Frecuencia de los genotipos para el polimorfismo TNF $\alpha$ -238 G/A en la población de estudio.....  | <b>74</b> |
| <b>Tabla 17.</b> Frecuencia de los genotipos para el polimorfismo TNF $\alpha$ -238 G/A en pacientes con lesiones preneoplásicas gástricas en la población de estudio y H.W.....                             | <b>75</b> |
| <b>Tabla 18.</b> Polimorfismo TNF $\alpha$ -238 G/A y su asociación con el riesgo de desarrollar lesiones preneoplásicas gástricas en la población de estudio.....   | <b>76</b> |

## LISTA DE FIGURAS

|   | Pág. |
|---|------|
| <b>Figura 1.</b> Pirámide poblacional de riesgo del cáncer gástrico.....  | 20   |
| <b>Figura 2.</b> Esquema de interacción de los tres grandes factores de la carcinogénesis gástrica: el agente ( <i>Helicobacter pylori</i> ), el huésped y el ambiente externo.....   | 22   |
| <b>Figura 3.</b> Factores que inducen la respuesta inflamatoria y mecanismos que promueve la aparición de lesiones preneoplásicas que conducen al desarrollo del cáncer gástrico..... | 27   |
| <b>Figura 4.</b> Mecanismos de acción del TNF- $\alpha$ durante la respuesta Inflamatoria. ....   | 32   |
| <b>Figura 5.</b> Imagen del gen del Factor de Necrosis Tumoral en humanos.....  | 32   |
| <b>Figura 6.</b> Imagen tridimensional de la proteína codificada por el gen MIF.....  | 36   |
| <b>Figura 7.</b> Modelo de acción del Factor Inhibidor de la Migración de Macrófagos.....   | 39   |
| <b>Figura 8.</b> Imagen del gen del Factor de Migración de Macrófagos en humanos.....   | 40   |
| <b>Figura 9.</b> Representación de un Polimorfismo de Nucleótido Simple (SNPs).....   | 42   |
| <b>Figura 10.</b> Representación de las posibles implicaciones de un SNP en el genoma.....  | 43   |
| <b>Figura 11.</b> Visualización del producto de amplificación por PCR del gen TNF $\alpha$ -308.....  | 48   |
| <b>Figura 12.</b> Visualización de la digestión de la enzima <i>Nco</i> I por RFLPs del SNP TNF $\alpha$ -308 G/A.....  | 49   |
| <b>Figura 13.</b> Visualización del producto de amplificación por PCR del gen TNF $\alpha$ -238.....  | 51   |

|   |           |
|---|-----------|
| <b>Figura 14.</b> Visualización de la digestión de la enzima <i>MspI</i> por RFLPs del SNP TNF $\alpha$ -238 G/A..... | <b>52</b> |
| <b>Figura 15.</b> Visualización del producto de amplificación por PCR del gen MIF-173.....                            | <b>54</b> |
| <b>Figura 16.</b> Visualización de la digestión de la enzima <i>AclI</i> por RFLPs del SNP MIF-173 G/C.....           | <b>55</b> |

## LISTA DE ABREVIATURAS

**TNF:** Factor de Necrosis Tumoral

**MIF:** Factor Inhibidor de la Migración de Macrófagos

**PCR:** Reacción en Cadena de la Polimerasa

**RFLP:** Polimorfismos de Longitud de Fragmentos de Restricción

**CA:** Cáncer

**IARC:** Agencia Internacional para la Investigación sobre el Cáncer

**CG:** Cáncer Gástrico

**ADN:** Ácido Desoxirribonucleico

**SNP:** Polimorfismo de Nucleótido Simple

**dNTP:** desoxinucleótido Trifosfato

**GCP:** Cáncer Gástrico Pacientes

**LP:** Lesiones Preneoplásicas

**pb:** pares de bases

**GCNA:** Gastritis Crónica No Atrófica

**GCA:** Gastritis Crónica Atrófica

**MI:** Metaplasia Intestinal

**DISP:** Displasia

## RESUMEN

Las lesiones preneoplásicas gástricas inducidas por la infección con *Helicobacter pylori*, que eventualmente desencadenan en cáncer gástrico conllevan a un grave problema de salud pública, siendo su desenlace maligno la primera causa de muerte por algún tipo de cáncer en Colombia (Globocan 2008). Esta infección causa una inflamación crónica que persiste con el tiempo, en la que actúan múltiples mecanismos moleculares encargados de promover desde la inflamación hasta la carcinogénesis. Entre estos mecanismos, las citoquinas juegan un papel importante en la cascada de carcinogénesis gástrica. El Factor de Necrosis Tumoral (TNF) y el Factor Inhibidor de la Migración de Macrófagos (MIF), cuyas funciones son mediar la inflamación, la regulación de la apoptosis, la activación de las células T y macrófagos, la respuesta inmune, entre otras, han sido postulados como potenciales biomarcadores para la detección temprana del cáncer gástrico.

En este estudio a través de las técnicas de PCR y RFLPs, se genotificaron los polimorfismos TNF $\alpha$ -238 G/A, TNF $\alpha$ -308 G/A y MIF-173 G/C para 258 pacientes con lesiones gástricas, distribuidos en 74 pacientes con GCNA (grupo de referencia), 27 son GCA, 66 MI, 29 DISP y 62 son pacientes con CG. Posteriormente se realizaron análisis estadísticos descriptivos para la población de estudio, encontrando una significativa asociación entre el género, la edad y los niveles socioeconómicos bajos con el desarrollo de lesiones gástricas. Se realizó igualmente, análisis estadísticos descriptivos para el comportamiento de los genotipos de cada polimorfismo en la población en general y asociándolos a cada lesión, para los cuales se aplicó el test del equilibrio de Hardy-Weinberg, encontrando solamente en el grupo de cáncer gástrico para el polimorfismo de MIF-173 G/C los genotipos en desequilibrio. Se definieron estimaciones de riesgo a través de regresión logística binaria para todos los genotipos en las diferentes lesiones, donde los pacientes con MIF-173 alelo C tienen 2,47 y 3,4 veces más riesgo a padecer DISP y CG, respectivamente. De la misma manera, los pacientes que tienen TNF $\alpha$ -308 alelo A, tienen 2,3 y 3,5 veces más riesgo de desarrollar MI y CG respectivamente. El genotipo mutado de TNF $\alpha$ -238 G/A, se comportó como un factor protector a desarrollar lesiones gástricas precancerosas.

## INTRODUCCIÓN

La alta incidencia de lesiones preneoplásicas gástricas en la población mundial y en el territorio nacional, señalan al desenlace maligno de esta patología (CA) como un grave problema de salud pública; siendo la primera causa de muerte por cáncer y la cuarta causa de mortalidad en general para el departamento del Cauca (Adrada, Calambás et al. 2008). Esta problemática requiere la formulación de investigaciones que permitan identificar los agentes causales de la enfermedad, los factores de riesgo que favorecen su desarrollo, así como establecer los mecanismos moleculares implicados en el proceso carcinogénico. Conocimiento que permitirá formular estrategias para prevenir el desarrollo del carcinoma, interviniendo en sus lesiones antecesoras con un diagnóstico oportuno y adecuado.

La infección causada por la presencia de la bacteria *Helicobacter pylori* en la mucosa gástrica, conduce a una respuesta agresiva del hospedero, activando la cascada de procesos regulados por mediadores inflamatorios como citoquinas, que inducen una inflamación crónica constante, la cual no contribuye a la erradicación del organismo, por el contrario conlleva a un persistente daño de la mucosa gástrica, que favorece el paso de inflamación crónica al desarrollo del tumor maligno (Izzotti, Durando et al. 2009).

Con base a estas consideraciones hay que tener en cuenta el carácter multifactorial de esta patología, donde los factores ambientales y el estilo de vida añaden también incertidumbre de desarrollar esta enfermedad; otro factor importante a tener en cuenta es la predisposición genética de una persona a desarrollar la patología basada en los genes y factores hereditarios; donde la evaluación del papel que desempeña la variabilidad genética en los mecanismos de acogida, en especial los relacionados con las citoquinas inflamatorias, son fundamentales para la comprensión de los procesos que se desencadenan en las diferentes lesiones que anteceden a esta neoplasia.

Por lo tanto, el presente trabajo se enfoca en la identificación de polimorfismos de dos citoquinas de gran importancia en la regulación de la respuesta inflamatoria

desencadenada por el hospedero ante la infección por *Helicobacter pylori*; estos son el Factor de Necrosis Tumoral (TNF) y el Factor Inhibidor de la Migración de Macrófagos (MIF), que hacen parte fundamental de la respuesta inmunológica, factores que contribuyen significativamente en el desarrollo de la carcinogénesis gástrica, desencadenando mecanismos moleculares que encauzan el paso de la infección a inflamación crónica y de esta a los cambios que se observan en las células gástricas y que caracterizan la atrofia, metaplasia, displasia y finalmente cáncer gástrico (Alpizar-Alpizar, Une et al. 2009).

En marco a las anteriores consideraciones este trabajo contribuirá a comprender algunos procesos que aun no son claros, como la relación que presentan los polimorfismos genéticos del factor MIF y TNF con las lesiones preneoplásicas gástricas, lo cual permitirá predecir riesgos individuales y poblacionales de esta neoplasia y ofrecer nuevas perspectivas en el diagnóstico de una de las patologías más prevalentes de la región y del país.

## 1. JUSTIFICACIÓN

Las lesiones precancerosas que pueden desencadenar en cáncer gástrico, conllevan a una de las neoplasias más prevalentes en el mundo representando el 9,9% de todos los tipos de cáncer, constituyéndose en la segunda causa de muerte por tumores malignos con más de 700.000 muertes anuales (Globocan 2008) y a pesar de la disminución en su incidencia a nivel mundial sigue siendo el cuarto cáncer en morbilidad, con 930.000 nuevos casos al año (Fritz 2010). En Colombia el carcinoma gástrico afecta a 36 personas y causa la muerte a 27,6 de cada 100.000 personas al año (Pérez 2009) y en el departamento del Cauca la muerte por esta patología es la primera causa de mortalidad por cáncer (Adrada, Calambás et al. 2008).

Dada la alta incidencia de esta patología a nivel mundial, nacional y local, se han realizado exhaustivas investigaciones sobre el carácter multifactorial del cáncer gástrico y de los mecanismos moleculares asociados a este proceso (Lochhead and El-Omar 2007; Polk and Peek 2010); sin embargo, es necesario aclarar algunos mecanismos patogénicos que aun no se comprenden en su totalidad, ahondando en la investigación del papel que desempeñan los factores genéticos de los individuos en cada uno de los eventos de la cascada de la carcinogénesis gástrica, para aportar información que permita dilucidar los mecanismos de respuesta inflamatoria que finalmente conllevan al desarrollo de esta enfermedad (Portal-Celhay and Perez-Perez 2006; Goodwin, Meyerhardt et al. 2010).

En los mecanismos de respuesta inflamatoria que contribuye al desarrollo de las lesiones preneoplásicas gástricas, que incluye gastritis crónica atrófica, metaplasia intestinal y displasia, juega un papel fundamental la infección por *Helicobacter pylori*, bacteria declarada desde 1994 por la Agencia Internacional para la Investigación en Cáncer, como un carcinógeno humano clase I (Lochhead and El-Omar 2007); esta infección es muy común a nivel mundial y se estima que más del 50% de la población humana se encuentra infectada, sin embargo, solo el 20% de estas personas desarrollan síntomas clínicos (Fritz 2010); hecho que genera el gran interés por el estudio de los factores de riesgo que clarifiquen la evolución de estas lesiones a cáncer gástrico (Lochhead and El-Omar 2008).



Los estudios de esta patología en la población, se han enfocado en la neoplasia, sin profundizar en las relaciones causales de los factores del hospedero que intervienen en el desarrollo de los estadios iniciales en su desenlace maligno. La necesidad de plantear una estimación del riesgo a desarrollar lesiones gástricas precancerosas en la población caucana y teniendo en consideración los indicadores epidemiológicos y los factores de susceptibilidad genética del hospedero, se convierte en un tema de investigación indispensable para postular mecanismos de patogénesis relevantes de dicha enfermedad. La estandarización de técnicas moleculares para la comprensión de dicha patología, es fundamental para la identificación de la susceptibilidad individual en los pacientes participantes en el estudio, lo que permitirá posteriormente relacionarlo con los hallazgos genotípicos de la bacteria y los marcadores biológicos de proliferación celular, apoptosis y regulación del ciclo, lo que permitirá caracterizar la relación existente entre los factores de riesgo del hospedero, bacteria y los ambientales, con lo cual se contribuirá a identificar los mecanismos etiopatogénicos de esta enfermedad en nuestra población.

Por estas razones, en el desarrollo de las lesiones preneoplásicas gástricas, es necesario estudiar el comportamiento de dos mediadores de respuesta inmunológica importantes como lo es el TNF- $\alpha$  y MIF (Peek Jr, Fiske et al. 2010). El TNF- $\alpha$ , es una citoquina proinflamatoria, considerada como el mayor mediador de inflamación a través de la recuperación o destrucción de los tejidos, regulando la apoptosis en células del epitelio gástrico, denominado un factor de riesgo adicional para desarrollar lesiones precancerosas, además, es considerado en el proceso de carcinogénesis como un importante marcador del estrés oxidativo (Torres, Acosta et al. 2004); (Izzotti, Durando et al. 2009). Por otro lado, MIF ha demostrado que juega un papel fundamental en los procesos inflamatorios y enfermedades autoinmunes (R. P. Donn 2001; Verjans, Noetzel et al. 2009); sin embargo, han sido pocas las investigaciones sobre la función que desempeña en enfermedades gastrointestinales, para las cuales se ha encontrado una marcada relación con la infección por *H. pylori*, la inflamación y el desarrollo del tumor; considerando en algunos estudios la posibilidad de ser un factor de iniciación encargado de cambiar de la inflamación crónica de la mucosa gástrica a la alteración del equilibrio entre la apoptosis y proliferación celular (R. P. Donn 2001; Harry Hua-Xia 2004; Pascal Renner 2005; Reyes 2008), hecho interesante en el estudio de la expresión del MIF en las diferentes lesiones inducidas por la infección de *H. pylori*, lo que permitiría dilucidar su relación e importancia en la carcinogénesis gástrica para esta población (Bucala and Donnelly 2007). Por

consiguiente, la identificación de los polimorfismos TNF $\alpha$ -238, TNF $\alpha$ -308 y MIF-173, que se encuentran relacionados con susceptibilidad a esta patología, son motivo de investigación a nivel mundial.

La presencia de resultados contradictorios en investigaciones de diferentes poblaciones, indican que la frecuencia de los polimorfismos genéticos de estos factores, difieren a nivel étnico y geográfico (Fritz 2010), situación que justifica la importancia de la realización de estudios que pretenda este tipo de objetivos, los cuales no se han llevado a cabo en población del departamento del Cauca, teniendo en cuenta que es una región con alta incidencia de este proceso infeccioso generado por *Helicobacter pylori* y que se reporta como una de las zonas con más alta frecuencia de cáncer gástrico en el país; este tipo de estudio permite por una parte generar conocimiento y por otra, brindar información que facilite implementar nuevas medidas de diagnóstico que permitan abordar de manera temprana la prevención de lesiones preneoplásicas gástricas con el fin de evitar que los individuos lleguen eventualmente a desarrollar cáncer gástrico.

Por otra parte, el presente estudio complementa parte del proceso de investigación del proyecto "*Variabilidad genética del Helicobacter pylori y su relación con la expresión de marcadores moleculares en lesiones gástricas preneoplásicas en una población del departamento del Cauca*", el cual busca un completo diagnóstico en todo el desarrollo de la infección y sus evoluciones en los diferentes pacientes. De esta manera se brindará un adecuado tratamiento y prevención para las personas más susceptibles a padecer esta patología; también permite contribuir al mejoramiento de técnicas confiables que puedan estar al servicio de toda la comunidad, aportando con ello a la posibilidad de la disminución de su incidencia en la población.

## 2. MARCO TEÓRICO

Colombia, un país de alta prevalencia de cáncer gástrico, presenta características socio-demográficas muy variables, observándose en la zonas costeras del pacifico y del atlántico al igual que los llanos orientales índices muy bajos para esta enfermedad a diferencia de los departamentos de la zona andina donde la mortalidad por este tipo de cáncer es alta, (Rodriguez, Alvaro et al. 2000). En la población del Cauca esta patología es la cuarta causa de muerte en general (Adrada, Calambás et al. 2008), lo cual lleva a replantear la importancia de realizar estudios que se centren en la identificación de las lesiones que originan el carcinoma gástrico, para lograr obtener información importante que permita comprender el proceso desde sus lesiones iniciales y así contribuir a buscar soluciones para esta problemática de salud pública.

### 2.1 HISTORIA NATURAL DE LA ENFERMEDAD

Las lesiones preneoplásicas que anteceden al cáncer gástrico, están determinadas por la evolución clínica de la infección de *H. pylori* variando de acuerdo con la interrelación de acogida por el hospedero y de los factores externos del medio ambiente (Lai and Sung 2007). La presencia de estas lesiones es relativamente frecuente en la población (Correa, Piazuelo et al. 2010), en la mayoría de las personas infectadas por la bacteria la inflamación es leve y generalmente no conduce a presentar signos o síntomas clínicos; por otro lado los pacientes que si los desarrollan en la mayoría de las ocasiones presentan mínimo dos de las distintas lesiones previas a la carcinogénesis (Hu, Ajani et al. 2007; Correa and Piazuelo 2008). La gran mayoría de personas presentan gastritis crónica pero no en todas ellas el proceso desencadena el desarrollo del carcinoma, como se representa en la figura 1 basándose en la teoría de Pelayo Correa de la cascada de carcinogénesis gástrica (Correa, Piazuelo et al. 2004), el proceso evoluciona en grupos cada vez menores presentando la lesión maligna solo una pequeña proporción de la población que inicialmente padecían las lesiones. La evolución de estas lesiones en promedio tarda de ocho a diez años, en la medida que persisten o se agregan nuevos factores de riesgo que aumentan el daño y la severidad del proceso. (Rubiano 2007)

**Figura 1.** Pirámide poblacional de riesgo del cáncer gástrico.



Fuente: Autora

### **2.1.1 Lesiones preneoplásicas**

La infección por *Helicobacter pylori* inicia desencadenando la inflamación de la mucosa gástrica (gastritis), que puede ser predominantemente aguda, con la infiltración neutrófila y de naturaleza transitoria, o crónica, con predominio de linfocitos y/o células plasmáticas, en presencia de cambios crónicos de la mucosa que pueden llevar atrofia, metaplasia intestinal hasta convertirse en cambios displásicos y proporcionar la base para el carcinoma. En la forma más leve de **gastritis aguda**, solo se muestra un edema moderado y una ligera congestión vascular, permaneciendo intacto el epitelio superficial. En la **gastritis crónica**, la inflamación puede afectar a diferentes regiones del estómago y cursar con grados variables de daño mucoso. En esta lesión la mucosa puede parecer enrojecida y con una textura diferente a la normal, el infiltrado inflamatorio puede crear una mucosa con pliegues engrosados; alternativamente, en la enfermedad atrófica de larga evolución la mucosa puede aparecer fina y aplanada. Un cambio histológico

importante es el desarrollo de atrofia que se manifiesta con una marcada pérdida de estructuras glandulares (Rubiano 2007).

Si la inflamación persiste con el tiempo se desarrolla una **metaplásia** la mucosa del antro, del cuerpo o del fondo puede estar parcialmente sustituida por células columnares con capacidad de absorción y células caliciformes de morfología intestinal (metaplásia intestinal), a lo largo del epitelio superficial y en las glándulas rudimentarias. En ocasiones pueden aparecer proyecciones similares a las vellosidades, además, aunque predominan las características del epitelio delgado a veces existen características del epitelio del colon. Esta metaplásia intestinal precede el desarrollo de la **displasia**, en donde se desarrollan alteraciones citológicas, entre ellas variación de tamaño, la forma, de orientación de células epiteliales, agrandamiento nuclear y atipia; estas alteraciones pueden intensificarse y contribuir al **carcinoma *in situ*** (Cotran 2008).

### **2.1.2 Cáncer gástrico**

El cáncer gástrico también conocido como adenocarcinoma de estomago, representan el 95% de los tumores malignos de este órgano. Se genera a partir de cambios en las células de la mucosa gástrica y se caracteriza por ser un tipo de crecimiento tisular maligno producido por la proliferación de células anormales con capacidad de invasión y destrucción de otros tejidos y órganos, en particular el esófago y el intestino delgado. La localización del cáncer gástrico dentro del estomago es la siguiente: píloro y antro del 50% al 60%, cardias el 25% y los tumores restantes se asientan en el cuerpo y el fondo del órgano. La curvatura menor se afecta alrededor del 40% de los casos y la curvatura mayor en el 12% y su localización predilecta es la curvatura menor en la región antropilórica (Cotran 2008).

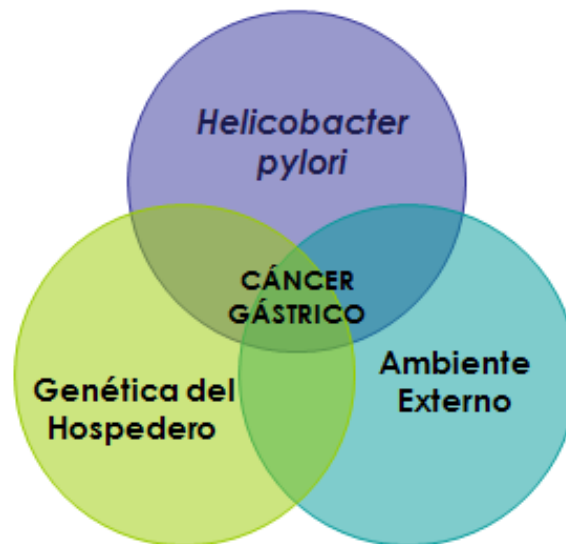
El carcinoma gástrico se clasifica de acuerdo con: 1. La profundidad de invasión, característica morfológica con mayor impacto sobre la evolución clínica de esta patología; 2. El patrón de crecimiento macroscópico y 3. El subtipo histológico, del que se puede diferenciar principalmente dos tipos, clasificados en 1965 por Lauren con características histológicas, epidemiológicas, clínicas, patológicas y pronósticas distintas, estos subtipos son el tipo intestinal y el difuso (Lauren 1965). El adenocarcinoma de tipo intestinal parece surgir de una gastritis crónica atrófica,

con el desarrollo de metaplasia intestinal y una transición progresiva a displasia. El tipo intestinal es el tipo histológico predominante en países en riesgo, más frecuente en hombres y predominante en personas de edad avanzada. Los adenocarcinomas difusos son indiferenciados o pobremente diferenciados y carecen de formación glandular, pueden surgir en ausencia de gastritis atrófica y se presenta en sujetos más jóvenes, frecuente en zonas de bajo riesgo (endémico) (Kountouras, Zavos et al. 2008).

Los síntomas más frecuentes de pacientes con cáncer gástrico son dolor epigástrico e indigestión, anorexia, pérdida de peso, vómitos, disfagia, lesión ocupante del abdomen. Las llamadas manifestaciones clásicas de este carcinoma, corresponden a una fase avanzada de la enfermedad. La inespecificidad de los síntomas tempranos es una de las razones del diagnóstico tardío (Fritz 2010).

El proceso de carcinogénesis gástrica es el resultado de múltiples factores, siguiendo el modelo epidemiológico clásico, las lesiones preneoplásicas están determinadas según Correa (2004), por la interacción de tres grandes factores en mucosa gástrica, tal como lo muestra la figura 2.

**Figura 2.** Esquema de interacción de los tres grandes factores de la carcinogénesis gástrica: el agente (*Helicobacter pylori*), el huésped y el ambiente externo.



Fuente: Autora

Se han identificado diversos factores externos del medio ambiente relacionados con riesgo al desarrollo de las lesiones precancerosas, que incluyen el tabaquismo, la ingesta de sal, alimentos ahumados y nitritos, también el poseer parientes de primer grado con historia de cáncer gástrico, al igual que los estratos socioeconómicos bajos, el hacinamiento, las malas condiciones higiénicas, el sexo masculino, la presencia de adenomas gástricos, el grupo sanguíneo A, la anemia perniciosa, la gastritis atrófica, la enfermedad de Menetrier y el antecedente de gastrectomía parcial por lesiones benignas (Kountouras, Gavalas et al. 2007; Correa, Piazuelo et al. 2010; Malfertheiner, Bornschein et al. 2010; Trasovares 2010).

## **2.2 *Helicobacter pylori***

*Helicobacter pylori* es una bacteria microaerofila, gram-negativa, de crecimiento lento, con forma espiralada y flagelada. Su genoma consiste en un cromosoma circular con un tamaño de 1.667.867 pares de bases y tiene aproximadamente 1590 secuencias codificantes (Tomb, White et al. 1997). Desde 1994, cuando la IARC clasificó a esta bacteria como cancerígeno humano clase I, se han desarrollado un gran número de estudios en todo el mundo que soportan esta asociación (Naito and Yoshikawa 2002). Los factores relacionados con la infección por *H. pylori* han sido reconocidos por tener un papel causal importante en el desarrollo de la cascada de la carcinogénesis gástrica, siendo el factor de riesgo adquirido más importante para esta enfermedad (Robinson, Argent et al. 2007; Echarri 2009; Muñoz 2009).

No existe una clara evidencia acerca de cuál es la ruta predominante de transmisión del *H. pylori* aunque se conocen argumentos a favor de cada una de ellas (gastro-oral, oral-oral y fecal-oral) y parece que la predominancia de una u otra depende de factores locales; un hecho que está ampliamente aceptado es la llegada de la bacteria al estómago humano por la boca como vía de entrada, ya que se trata de un patógeno no invasivo y su ruta hacia la mucosa gástrica no puede ser otra. Otra clara evidencia es el hecho de que en la infancia es el periodo de máxima incidencia de infección, siendo a la vez el periodo de máximo potencial de adquisición y de pérdida de la misma, en especial durante los dos primeros años (Parra 2009).

*H. pylori* produce una serie de factores de virulencia que son esenciales para la colonización del estómago y la supervivencia en el ambiente hostil gástrico. Algunas cepas son consideradas como más agresivas y han sido asociadas con un mayor riesgo de CG; las cepas más conocidas y mejor caracterizadas son aquellas que presentan los factores de virulencia VacA, CagA e IceA. VacA es una proteína citotóxica, codificada por el gen *vacA*, que induce la formación de vacuolas en células epiteliales dañando dichas células o causando su muerte por apoptosis. Todas las cepas de *H. pylori* producen dicha proteína, pero su expresión varía con base en polimorfismos existentes en sitios específicos de la secuencia del gen. La proteína VacA induce apoptosis en líneas celulares a través de sus efectos sobre la mitocondria, la liberación del citocromo C y de citocinas proinflamatorias mastocitarias. Aumenta la permeabilidad de las células gástricas a la urea favorece la capacidad de colonización e infección de la bacteria. *H. pylori* desencadena en las células epiteliales del hospedero una serie de señales celulares y procesos hiperproliferativos que determinan un mayor riesgo de transformación maligna (Fuentes-Pananá, Camorlinga-Ponce et al. 2009; Polk and Peek 2010).

Por su parte, las cepas CagA positivas producen una proteína codificada por el gen *cagA*, localizado en una región del genoma bacteriano conocida como la isla de patogenicidad Cag (PAI). Las cepas portadoras de PAI poseen un sistema de secreción tipo IV que funciona como aguja y permite “inyectar” la proteína CagA en el citoplasma de las células epiteliales del estómago (Fritz 2010). Una vez translocada al citoplasma, CagA es fosforilada y, en ese estado, desencadena una serie de eventos celulares como, por ejemplo, rearreglos del citoesqueleto celular, inducción de la expresión de citoquinas proinflamatorias, induciendo el aumento de la expresión de ciclina D1, c-fos y Elk-2, genes implicados en la inducción de la proliferación celular y activación de oncogenes, entre otros, que juegan un papel fundamental en la carcinogénesis gástrica (Sierra, Linares et al. 2008). Aunque los genes *vacA* y *cagA* no guardan relación entre sí, a menudo son coexpresados. El riesgo de desarrollar ciertas lesiones gástricas precancerosas y CG es aún mayor en personas infectadas con cepas que coexpresan genotipos específicos de ambos genes, debido a la respuesta inflamatoria que desencadenen y a los procesos fisiopatológicos que se involucren. (Malfertheiner, Bornschein et al. 2010).



Otro gen que ha sido implicado en la virulencia de la bacteria es el gen *iceA* (inducido por contacto con el epitelio), del que se conocen dos variantes, *iceA1* e *iceA2*, las cuales no están relacionadas entre sí, pero se encuentran ocupando el mismo locus en el genoma bacteriano. El gen *iceA1* en algunas poblaciones se ha asociado con la presentación de úlcera péptica (Montealegre O, Jaramillo H et al. 2010).

La colonización de la mucosa gástrica por *H. pylori* con los factores de virulencia bacteriana antes mencionados induce inicialmente una respuesta inflamatoria de tipo aguda, que no es capaz de eliminar al microorganismo, por lo que la infección persiste y se torna crónica, donde la diversidad genética de acogida del hospedero, en particular de los genes de respuesta inmune definen el desarrollo clínico de la enfermedad (Polk and Peek 2010; Tanih, Ndip et al. 2010).

### **2.3 RESPUESTA INFLAMATORIA**

Al ingresar *Helicobacter pylori* al organismo y entrar en contacto con la primera línea defensiva como es la mucosa gástrica, se ponen de manifiesto diferentes acciones por parte de las barreras del huésped para tratar de eliminar al microorganismo patógeno, que constan de defensas inmunitarias innatas y adaptativa (Lochhead and El-Omar 2007). Los mecanismos de defensa inmunitarios innatos existen antes de la infección y responden rápidamente a la presencia bacteriana o de alguno de sus productos, siendo los encargados de combatir la infección desde el mismo momento de su inicio, sin embargo, sus mecanismos inespecíficos para el reconocimiento de la bacteria no son suficientes para su erradicación; lo que lleva a desarrollar una respuesta de tipo *adaptativa*, la cual posee mecanismos específicos para el reconocimiento de *H. pylori*, mediada por linfocitos T y B y sus productos (Ferrone and Dranoff 2010; Richard M. Peek 2010).

La exposición constante a *H. pylori* debido a su gran capacidad para infectar, colonizar y dañar los tejidos del huésped, conlleva a intensificar dicha respuesta inmune, donde a su vez este aumento en la magnitud, velocidad y eficacia de la respuesta puede ocasionar ciertos daños en la mucosa epitelial desencadenando una respuesta de tipo inflamatoria, la cual se inicia rápidamente y es breve en

duración: *respuesta inflamatoria aguda*, este tipo de reacción se caracteriza por alteraciones en el calibre vascular que dan lugar a un aumento de flujo sanguíneo en la zona afectada, donde los cambios estructurales en las microvasculaturas permiten que las proteínas plasmáticas y los leucocitos abandonen la circulación, lo que lleva finalmente a su migración, acumulación y activación en el foco de la lesión para eliminar el agente patógeno. Al persistir la infección con *H. pylori*, lo que implica la exposición prolongada a toxinas bacterianas y a sustancias reactivas de oxígeno y nitrógeno que son productos de las reacciones desarrolladas en el proceso inflamatorio, se desencadena una *respuesta inflamatoria crónica*, donde la infiltración celular y la destrucción tisular son sus principales características (Fuentes-Pananá, Camorlinga-Ponce et al. 2009).

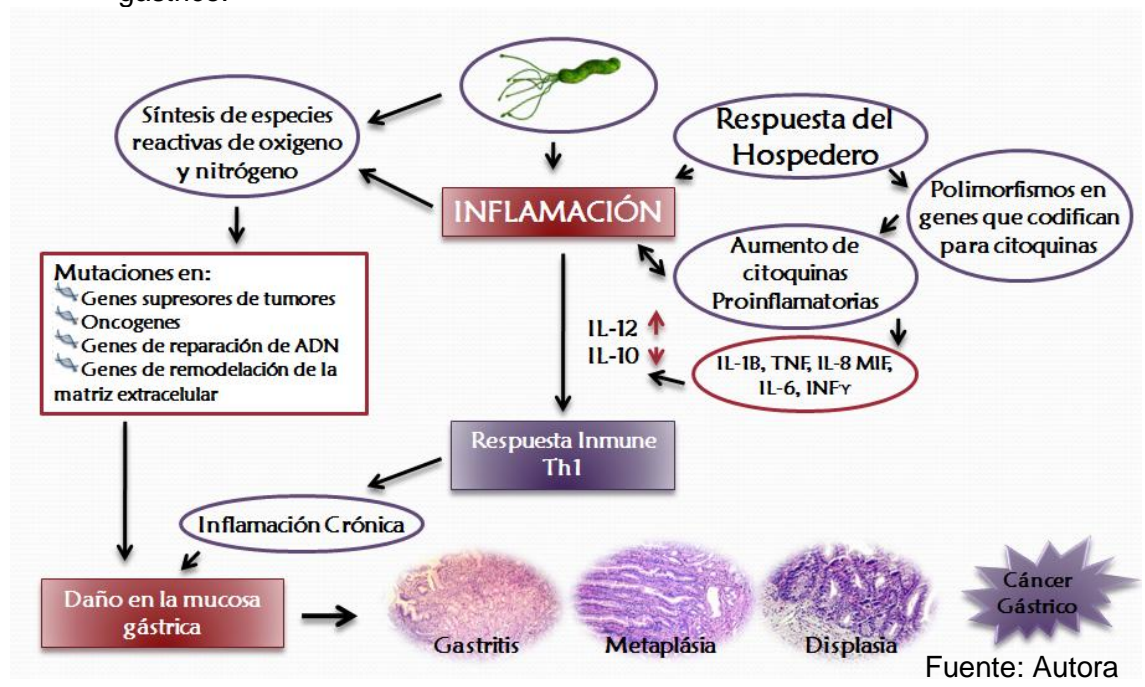
Los mecanismos inflamatorios están determinados por dos procesos: la acción del sistema de complemento, denominado *respuesta de tipo humoral*, que estimula los fagocitos, el aumento del flujo sanguíneo, la permeabilidad, la quimiotaxis y la lisis de la bacteria; y la *respuesta de tipo celular*, que activa fagocitos (monocitos y macrófagos residentes y neutrofilos importados), donde además de ingerir y destruir patógenos, liberan mediadores inflamatorios que mantienen la respuesta de tipo adaptativa (Libby 2007). Estos mediadores inflamatorios son principalmente eicosanoides, metabolitos reactivos de oxígeno, el sistema de complemento, neuropéptidos liberados por las neuronas del sistema nervioso entérico y un complejo grupo de citoquinas proinflamatorias, quimiotácticas e inmunosupresoras, los cuales son los encargados de coordinar la respuesta inmune (Portal-Celhay and Perez-Perez 2006).

El patrón de citoquinas presentes en el medio y las condiciones propias del individuo, promueven la diferenciación de los linfocitos Th0 en Th1 mediando una respuesta de tipo celular o bien Th2 con una respuesta de tipo humoral, mecanismo al que engaña *H. pylori* para persuadir o evadir los mecanismos de ataque del sistema inmunológico. Las células Th1 generan una respuesta inflamatoria y de inmunidad mediada por la producción de INF- $\gamma$ , IL-2, IL-12, IL-18 y TNF- $\alpha$ , una respuesta usualmente eficaz contra microorganismos patógenos intracelulares; mientras que las células Th2 asociadas con la inducción de anticuerpos IgA mediante la producción de IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13, entre otras citocinas (Anselmi, Castillo et al. 2008).

Siendo *H. pylori* un microorganismo extracelular, donde su hábitat la constituye la interfase mucosal gástrica, la infección por esta bacteria modifica la diferenciación de las células Th0 hacia una respuesta inmune inadecuada para su destrucción, esto se debe a la expresión del gen *vacA*, que induce la formación de vacuolas en células epiteliales, activando la producción IL-12 macrófagos y monocitos patrón de citoquinas que caracterizan la expresión de una respuesta ante parásitos intracelulares, cuya presencia favorecerá la respuesta tipo Th1 ineficaz para erradicar a *Helicobacter pylori*; causando un desgaste del sistema inmune y el aumento del daño tisular (Portal-Celhay and Perez-Perez 2006; Ferrone and Dranoff 2010).

Como consecuencia de la infección bacteriana y de la inflamación originada, se produce en el entorno gástrico la síntesis y acumulación de compuestos mutagénicos los cuales aumentan considerablemente la probabilidad de que ocurran alteraciones a nivel genómico, que propician la aparición de estados premalignos conducentes al desarrollo del cáncer gástrico (Alpizar-Alpizar, Une et al. 2009), procesos que se muestran claramente desde el inicio de la inflamación hasta el desarrollo de las diferentes lesiones precancerosas tal como se muestra en la figura 3.

**Figura 3.** Factores que inducen la respuesta inflamatoria y mecanismos que promueve la aparición de lesiones preneoplásicas que conducen al desarrollo del cáncer gástrico.



Fuente: Autora

Los mecanismos que participan en las lesiones directas del ADN, la inhibición de la apoptosis, la ineficiencia de la inmunidad, la estimulación de la angiogénesis y la inflamación crónica afectan la proliferación, adherencia y la transformación celular llevando a la agresividad en el desarrollo de lesiones precancerosas (Czinn 2005); todos estos procesos son el resultado de la interacción de una serie de factores del hospedero que llevan a determinar la severidad de las lesiones (Goodwin, Meyerhardt et al. 2010).

## 2.4 CITOQUINAS DE INFLAMACIÓN

Las citoquinas son sustancias de naturaleza proteica (glicoproteínas de bajo peso molecular), con una vida media muy limitada, producidas por diferentes tipos de células del sistema inmune (macrófagos, linfocitos T, NK) y células no inmunes (fibroblastos, células endoteliales); cuyas funciones principales son: la coordinación de la respuesta inmune, la regulación de la duración y amplificación de la respuesta inflamatoria, el reclutamiento de células y también tienen la capacidad de inducir, potenciar o inhibir la generación de células nuevas (Cotran 2008).

Las acciones de las citoquinas son pleiotrópicas, significando que cualquiera de ellas puede actuar sobre muchos tipos celulares y mediar muchos efectos, los cuales pueden ser inducidos de manera autocrina, paracrina o endocrina clásica (en pocas ocasiones) (Moreno 2008); estas por lo general no actúan solas, sino, con otras citoquinas producidas por la misma o diferente célula, siendo capaces de estimular aquellas células que poseen receptores específicos de alta afinidad y cuyo principal objetivo es eliminar el patógeno y reparar los tejidos dañados (Cotran 2008; Richard M. Peek 2010).

La secreción excesiva y prolongada de estos mediadores de inflamación, tiene consecuencias importantes en el contexto de la inflamación y la fisiología gástrica, traducéndose en un mayor riesgo a desarrollar daño celular. Las citoquinas se han relacionado en varios estudios de susceptibilidad y desarrollo de lesiones precancerosas, en los cuales se demuestran que las personas infectadas por *Helicobacter pylori*, portadores de alelos específicos de citoquinas como por ejemplo TNF- $\alpha$  y el MIF presentan un incremento en el riesgo de desarrollar

cáncer gástrico (Zhong-Wu Li 2010). También se ha demostrado que en diferentes grupos étnicos y poblaciones de todo el mundo existe una fuerte asociación entre los polimorfismos de diversos factores pro-inflamatorios y el incremento a lesiones más severas aumentando el riesgo de desarrollar éste carcinoma (Mohar, Ley et al. 2002; Alpízar-Alpízar, Une et al. 2009). Las citoquinas controlan la respuesta del organismo ante la infección por *H. pylori*, modificando la severidad de la inflamación en función de variantes genéticas individuales (polimorfismos) de los diferentes factores, asociados con mayor riesgo de desarrollar lesiones gástricas preneoplásicas y cáncer gástrico (Robinson, Argent et al. 2007) tal como se presenta en la tabla 1.

**Tabla 1.** Citoquinas asociadas con el desarrollo de cáncer gástrico y lesiones gástricas precancerosas.

| CITOQUINA   | TIPO             | FUNCIÓN ATRIBUIDA EN CARCINOGENÉISIS GÁSTRICA  |
|---|------------------|--|
| <b>Interleuquina - 1 Beta (IL-1<math>\beta</math>)</b>                                    | Proinflamatoria  | Inhibe la secreción de ácidos gástricos<br>Polimorfismos IL-1 $\beta$ -511T, -31C y +3954T asociados con mayor riesgo de cáncer gástrico y lesiones gástricas precancerosas.   |
| <b>Receptor antagonista de Interleuquina-1 (IL-1Ra)</b>                                   | Antiinflamatoria | Polimorfismo IL-1RN2'2 asociado con mayor riesgo de cáncer gástrico y lesiones gástricas precancerosas   |
| <b>Factor de Necrosis Tumoral alfa (TNF-<math>\alpha</math>)</b>                          | Proinflamatoria  | Inhibe la secreción de ácidos gástricos<br>Polimorfismos TNFA-308 <sup>a</sup> y -1210CC asociados con mayor riesgo de cáncer gástrico y lesiones gástricas precancerosas.   |
| <b>Interleuquina-8 (IL-8)</b>   | Quimiotáctica    | Niveles de IL-8 hasta 10 veces mayores en cáncer gástrico comparado con mucosa gástrica normal.<br>Mayor expresión en cáncer gástrico de tipo difuso.<br>Polimorfismo IL8-251*T/*A asociado con un mayor riesgo de cáncer gástrico y lesiones gástricas precancerosas. |
| <b>Interleuquina-10 (IL-10)</b>   | Antiinflamatoria | Bajos niveles de IL-10 propician una respuesta inflamatoria excesiva.<br>Polimorfismos IL-10-1082A, -819T y -592A asociados con mayor riesgo de desarrollar cáncer gástrico y lesiones gástricas precancerosas.  |
| <b>Interleuquina-4 (IL-4)</b>   | Antiinflamatoria | Polimorfismos IL-4+984AA y +2983GA asociados con menor riesgo de desarrollar cáncer gástrico   |
| <b>Interleuquina-6 (IL-6)</b>   | Proinflamatoria  | Niveles de IL-6 hasta 10 veces mayores en cáncer gástrico comparado con mucosa gástrica normal.  |
| <b>Interferón-gama (INF-<math>\gamma</math>)/<br/>Receptor de Interferón gama (INFG2)</b> | Proinflamatoria  | Polimorfismo INFG2 Ex7-128C asociado con mayor riesgo de desarrollar cáncer gástrico.  |

Fuente: Alpízar-Alpízar et al., 2009

### **2.4.1 Factor de Necrosis Tumoral (TNF- $\alpha$ )**

El factor de necrosis tumoral alfa, fue descrito por primera vez en 1975 por el Dr. J. Lloyd, como un factor citotóxico producido por los macrófagos. El TNF- $\alpha$  es proteína de 17 kDa, constituida por tres polipéptidos que forman un trímero compacto de 212 aminoácidos (Moreno 2008).

El TNF- $\alpha$  es uno de los principales mediadores de la inflamación; segregado principalmente por macrófagos tisulares residentes, mastocitos y células endoteliales, en respuesta a agentes agresores como endotoxinas y otros productos microbianos, inmunocomplejos, agresión física y varios estímulos inflamatorios. Su acción más importante en la inflamación son sus efectos sobre el endotelio, leucocitos y fibroblastos y la inducción de reacciones sistémicas de fase aguda. En el endotelio induce un espectro de cambios, principalmente regulados a nivel de transcripción génica, referidos como activación endotelial (Moreno 2008). En particular inducen la síntesis de moléculas de adhesión endotelial y de mediadores químicos, incluyendo otras citoquinas, quimiocinas, factores de crecimiento, eicosanoides y óxido nítrico (ON); también regula la producción de enzimas asociadas con la remodelación de la matriz y el aumento de la trombogenicidad superficial del endotelio. El TNF $\alpha$  también induce el cebado de los neutrófilos, dando lugar a respuestas aumentadas de estas células y a otros mediadores (Cotran 2008).

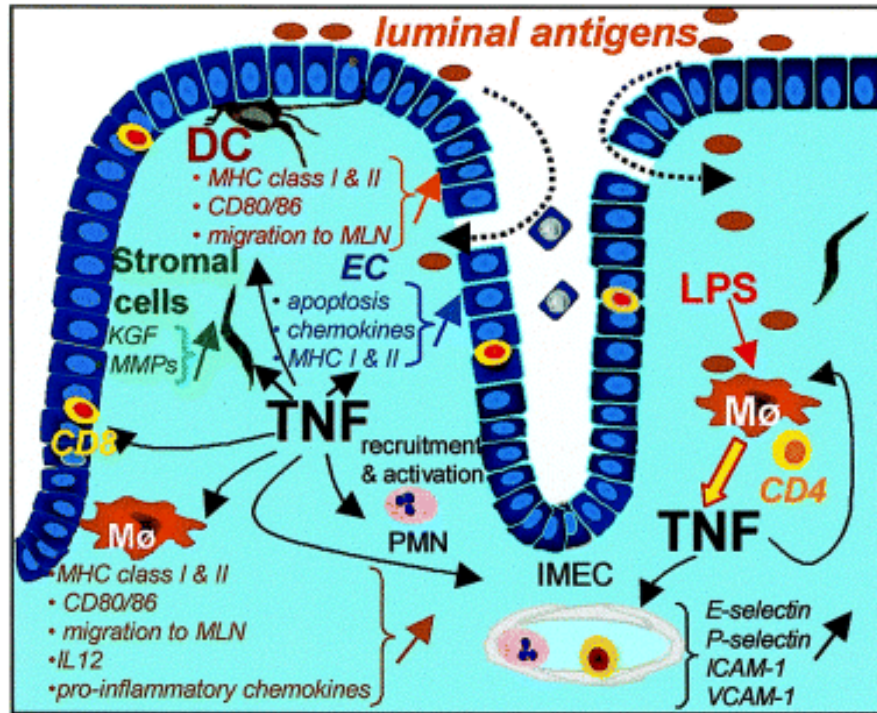
El TNF- $\alpha$  promueve las respuestas agudas sistémicas asociadas con infección o agresión, las características de esta respuesta sistémica incluyen fiebre, pérdida del apetito (caquexia), sueño de ondas lentas, liberación de neutrófilos a la circulación, liberación de corticotropina y corticoesteroides, además regula particularmente los efectos hemodinámicos del shock séptico: la hipotensión, la resistencia vascular disminuida, el aumento de la frecuencia cardíaca y la disminución del pH sanguíneo. De igual manera este factor regula el mecanismo de trombosis vascular al que se le atribuye en parte el fenómeno de necrosis tumoral (Locksley, Killeen et al. 2001). La sobreexpresión de TNF- $\alpha$  contribuye al desarrollo de varios tipos de patologías, entre ellas las lesiones precancerosas gástricas (Padilla 2007).

Durante los últimos años se ha aumentado la información acerca del papel del TNF- $\alpha$  en enfermedades malignas como artritis reumatoide, enfermedad inflamatoria del intestino, diabetes, sepsis y muchas otras infecciones, incluyendo VIH (Hanahan and Weinberg 2000), adicionalmente se encuentra implicado en el crecimiento celular de los tumores y las interacciones que facilitan la invasión tumoral y la metástasis así como en las etapas iniciales del proceso de apoptosis en el tumor (con o sin un mecanismo inflamatorio como mediador), por ello, se ha establecido su papel importante puesto que puede proveer una “señal de vida” o promover a las células tumorales, por lo que se le ha llamado como “factor promotor del tumor” (Balkwill and Mantovani 2001).

Los altos niveles de TNF- $\alpha$  en la mucosa de los pacientes infectados con *Helicobacter pylori*, demuestran la relación de este factor con la respuesta inflamatoria desencadenada por dicha bacteria; en la cual, los niveles de TNF- $\alpha$  se encuentran en aumento en pacientes con gastritis antral, metaplasia intestinal y gastritis atrófica, relacionando este hecho con la presencia de cambios histológicos crónicos y la expansión del tumor (Padilla 2007). Las personas con una predisposición genética específica para la respuesta inflamatoria basada en el Factor de Necrosis Tumoral, responden a la infección por H. pylori mediante el cambio del entorno estomacal a través de la inflamación crónica y la acidez reducida (Torres, Acosta et al. 2004).

La liberación de TNF- $\alpha$  como se muestra en la figura 4, produce activación local de respuesta inmune, la liberación de óxido nítrico con vasodilatación y alteración de la permeabilidad del epitelio mediante la inducción de una apoptosis acelerada de las células epiteliales; además puede iniciar y perpetuar una respuesta inflamatoria a través de la regulación de moléculas de adhesión llevando al reclutamiento de células mediadoras, inmunoglobulinas y de complemento que provocan la activación de los linfocitos T y B (V. Aguirre 2002). También favorece la respuesta de tipo Th1 llevando a una inflamación crónica, donde la cantidad de células involucradas y el daño de la mucosa se ven incrementados. Las células T pueden reconocer antígenos CD4 e inducir la síntesis mejorada de TNF- $\alpha$  en macrófagos y otros tipos celulares, los cuales son activados por la producción de metaloproteasas de matriz, conllevando a la sobreexpresión de los antígenos MHC de clase I y II y de moléculas coestimuladoras de las células dendríticas, favoreciendo la reacción inflamatoria en la mucosa gástrica afectada (Dayer 2006).

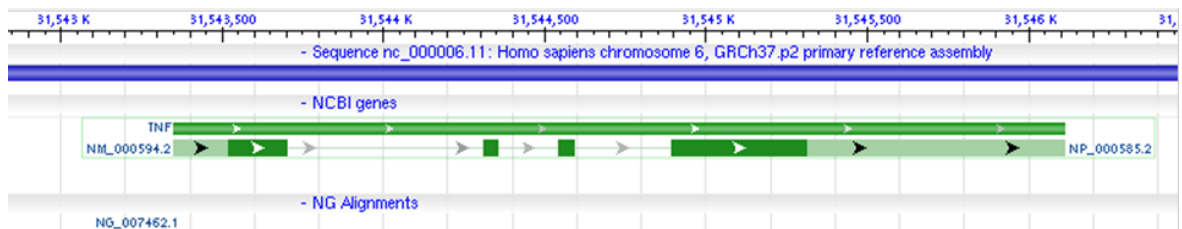
**Figura 4.** Mecanismos de acción del TNF- $\alpha$  durante la respuesta inflamatoria.



Fuente: Dayer R., 2006.

El gen que codifica para el factor TNF- $\alpha$  en humanos se encuentra en el cromosoma 6p21.3, se extiende cerca de 3 kilobases y contiene cuatro exones, como se muestra en la figura 5 (Erciyas, Pehlivan et al. 2010).

**Figura 5.** Imagen del gen del Factor de Necrosis Tumoral en humanos.



Fuente: [www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/)

Varios polimorfismos bi-alélicos del gen que codifica para esta citoquina son conocidos, como los polimorfismos de un único nucleótido (SNPs) TNF $\alpha$ -308 G/A con rs1800629 (Tabla 2) y el TNF $\alpha$  238 G/A con rs361525 (Tabla 3), los cuales se han relacionado como promotores funcionales en el proceso inflamatorio. La



transición de una guanina por una adenina en posición 308 que cumple un papel importante en la gastritis inducida por *H. pylori* y se ha encontrado que influye en el riesgo de desarrollar lesiones precancerosas crónicas (El-Omar, Rabkin et al. 2003; Machado, Figueiredo et al. 2003; McLoughlin, O'Morain et al. 2005), puesto que en estudios in vitro han demostrado que este polimorfismo aumenta la transcripción del gen. Contrariamente al alelo TNF $\alpha$ -238 que parece tener una función protectora contra el riesgo de cáncer (Lu, Pan et al. 2005). El papel de otros polimorfismos como TNF $\alpha$ -1031, -863 y -857, que se observan en una proporción relativamente grande en las poblaciones japonesas a diferencia de la nuestra, tienen una influencia más marcada en el riesgo de varias condiciones inflamatorias en enfermedades infecciosas, autoinmunes y neoplasias linfoides (Soga, Nishimura et al. 2003).

**Tabla 2.** Referencia del SNP TNF $\alpha$ -308 rs1800629

| Referencia SNP                |                                | Alelo              |   |
|-------------------------------|--------------------------------|--------------------|---|
| Organismo                     | Humano ( <i>Homo sapiens</i> ) | Clase de Variación | SNP: Polimorfismo de un nucleótido simple |
| Tipo molécula                 | Genómica                       | Ref. SNP Alelos    | A/G                                       |
| Creado/Modificado en estruct. | 89/132                         | Alelo ancestral    | G   |
| Mapa del Genoma tipo          | 37.1                           | Asociación Clínica | Desconocida                               |
| Citación                      | Pubmed                         |                    |   |

Fuente: [www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp\\_ref.cgi?rs=1800629](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=1800629)

**Tabla 3.** Referencia del SNP TNF $\alpha$ -238 rs361525

| Referencia SNP                |                                | Alelo              |   |
|-------------------------------|--------------------------------|--------------------|---|
| Organismo                     | Humano ( <i>Homo sapiens</i> ) | Clase de Variación | SNP: Polimorfismo de un nucleótido simple |
| Tipo molécula                 | Genómica                       | Ref. SNP Alelos    | A/G                                       |
| Creado/Modificado en estruct. | 79/132                         | Alelo ancestral    | G   |
| Mapa del Genoma tipo          | 37.1                           | Asociación Clínica | Desconocida                               |
| Citación                      | Pubmed                         |                    |   |

Fuente: [www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp\\_ref.cgi?rs=361525](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=361525)

Estos SNPs (rs1800629 y rs361525) de interés como posibles marcadores de nuestra población presentan una distribución variada a nivel mundial, como se muestra en las frecuencias reportadas por la NCBI en las tablas 4 y 5; donde se evidencia los pocos estudios realizados en Latinoamérica para los cuales no se encuentran reportados datos que se puedan tomar como referencia.

La citoquina TNF- $\alpha$  ejerce su función a través de dos receptores distintos TNFR1 o TNFR2. El TNFR1 es de conocimiento general para mediar en la mayoría de los efectos del TNF- $\alpha$ , especialmente la apoptosis, mientras que TNFR2 es principalmente implicado en la proliferación de linfocitos (Wu, Chen et al. 2004;

Moreno 2008). Por lo tanto, las alteraciones funcionales cuales quiera que sean en la vía de TNF- $\alpha$  pueden predisponer a enfermedades infecciosas como lo es en este caso la asociada a la bacteria *H. pylori*; en consecuencia, es considerado por varios autores como un factor de riesgo para el desarrollo de cáncer gástrico, puesto que es de gran importancia en la cascada de la respuesta inflamatoria que desencadena en este tipo de lesiones (Kaijzel, Brinkman et al. 1999; McNamara and El-Omar 2008).

**Tabla 4.** Frecuencia de los genotipos G/G, G/A y A/A en la población para el SNP rs1800629.

| ss#                         | Sample Ascertainment               |                     |                    |        | Genotype Detail <sup>NEW</sup> |       |       |       | Alleles |       |
|-----------------------------|------------------------------------|---------------------|--------------------|--------|--------------------------------|-------|-------|-------|---------|-------|
|                             | Population                         | Individual Group    | Chrom. Sample Cnt. | Source | A/A                            | A/G   | G/G   | HWP   | A       | G     |
| <a href="#">ss120928291</a> | <a href="#">pilot.1.CEU</a>        |                     | 72                 | AF     |                                |       |       |       | 0.236   | 0.764 |
|                             | <a href="#">pilot.1.CHB+JPT</a>    |                     | 88                 | AF     |                                |       |       |       | 0.045   | 0.955 |
|                             | <a href="#">pilot.1.YRI</a>        |                     | 50                 | AF     |                                |       |       |       | 0.060   | 0.940 |
| <a href="#">ss12691494</a>  | <a href="#">HapMap-CEU</a>         | European            | 120                | IG     | 0.433                          | 0.567 |       |       | 0.217   | 0.783 |
|                             | <a href="#">HapMap-HCB</a>         | Asian               | 90                 | IG     | 0.067                          | 0.933 |       |       | 0.033   | 0.967 |
|                             | <a href="#">HapMap-JPT</a>         | Asian               | 88                 | IG     | 0.045                          | 0.955 |       |       | 0.023   | 0.977 |
|                             | <a href="#">HapMap-YRI</a>         | Sub-Saharan African | 114                | IG     | 0.123                          | 0.877 |       |       | 0.061   | 0.939 |
|                             | <a href="#">YRI</a>                | Sub-Saharan African | 114                | IG     | 0.123                          | 0.877 | 0.655 | 0.061 | 0.939   |       |
|                             | <a href="#">CHB</a>                | Asian               | 90                 | IG     | 0.067                          | 0.933 | 1.000 | 0.033 | 0.967   |       |
|                             | <a href="#">JPT</a>                | Asian               | 88                 | IG     | 0.045                          | 0.955 | 1.000 | 0.023 | 0.977   |       |
|                             | <a href="#">CEU</a>                | European            | 120                | IG     | 0.433                          | 0.567 | 0.050 | 0.217 | 0.783   |       |
|                             | <a href="#">ss162198777</a>        | <a href="#">CEU</a> | European           | 2      | IG                             | 1.000 |       |       | 0.500   | 0.500 |
| <a href="#">ss16360688</a>  | <a href="#">POPU1</a>              |                     | 40                 | AF     |                                |       |       | 0.100 | 0.900   |       |
| <a href="#">ss16360736</a>  | <a href="#">POPU1</a>              |                     | 38                 | AF     |                                |       |       | 0.105 | 0.895   |       |
| <a href="#">ss4328930</a>   | <a href="#">PGA-AFRICAN-PANEL</a>  | African American    | 44                 | IG     | 0.045                          | 0.318 | 0.636 | 1.000 | 0.205   | 0.795 |
|                             | <a href="#">PGA-EUROPEAN-PANEL</a> | European            | 44                 | IG     | 0.364                          | 0.636 | 0.317 | 0.182 | 0.818   |       |
| <a href="#">ss52088979</a>  | <a href="#">HSP_GENO_PANEL</a>     |                     | 106                | IG     | 0.038                          | 0.962 | 1.000 | 0.019 | 0.981   |       |
|                             | <a href="#">YRI_GENO_PANEL</a>     | Sub-Saharan African | 118                | IG     | 0.136                          | 0.864 | 0.584 | 0.068 | 0.932   |       |
|                             | <a href="#">AAM_GENO_PANEL</a>     | African American    | 114                | IG     | 0.018                          | 0.211 | 0.772 | 1.000 | 0.123   | 0.877 |
|                             | <a href="#">CEU_GENO_PANEL</a>     | European            | 110                | IG     | 0.436                          | 0.564 | 0.050 | 0.218 | 0.782   |       |
|                             | <a href="#">CHB_GENO_PANEL</a>     | Asian               | 90                 | IG     | 0.067                          | 0.933 | 1.000 | 0.033 | 0.967   |       |

Fuente: [www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp\\_ref.cgi?rs=1800629](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=1800629)

**Tabla 5.** Frecuencia de los genotipos G/G, G/A y A/A en la población para el SNP rs361525

| ss#                        | Sample Ascertainment               |                     |                    |        | Genotype Detail <sup>NEW</sup> |       |       | Alleles |       |
|----------------------------|------------------------------------|---------------------|--------------------|--------|--------------------------------|-------|-------|---------|-------|
|                            | Population                         | Individual Group    | Chrom. Sample Cnt. | Source | A/G                            | G/G   | HWP   | A       | G     |
| <a href="#">ss16360690</a> | <a href="#">POPU1</a>              |                     | 40                 | AF     |                                |       |       | 0.050   | 0.950 |
| <a href="#">ss16360738</a> | <a href="#">POPU1</a>              |                     | 40                 | AF     |                                |       |       | 0.050   | 0.950 |
| <a href="#">ss4328932</a>  | <a href="#">PGA-AFRICAN-PANEL</a>  | African American    | 46                 | IG     | 0.087                          | 0.913 | 1.000 | 0.043   | 0.957 |
|                            | <a href="#">PGA-EUROPEAN-PANEL</a> | European            | 44                 | IG     | 0.136                          | 0.864 | 0.752 | 0.068   | 0.932 |
| <a href="#">ss5586945</a>  | <a href="#">P1</a>                 |                     | 200                | GF     | 0.190                          | 0.810 | 0.294 | 0.095   | 0.905 |
|                            | <a href="#">CAUC1</a>              |                     | 60                 | GF     | 0.067                          | 0.933 | 1.000 | 0.033   | 0.966 |
|                            | <a href="#">AFR1</a>               |                     | 48                 | GF     | 0.292                          | 0.708 | 0.403 | 0.146   | 0.854 |
|                            | <a href="#">HISP1</a>              |                     | 46                 | GF     | 0.217                          | 0.783 | 0.527 | 0.109   | 0.891 |
|                            | <a href="#">PAC1</a>               |                     | 46                 | GF     | 0.217                          | 0.783 | 0.527 | 0.109   | 0.891 |
| <a href="#">ss6310585</a>  | <a href="#">PDR90</a>              | Global              | 168                | IG     | 0.155                          | 0.845 | 0.479 | 0.077   | 0.923 |
| <a href="#">ss6312902</a>  | <a href="#">PDR90</a>              | Global              | 156                | IG     | 0.154                          | 0.846 | 0.479 | 0.077   | 0.923 |
| <a href="#">ss66859810</a> | <a href="#">HSP_GENO_PANEL</a>     |                     | 52                 | IG     | 0.038                          | 0.962 | 1.000 | 0.019   | 0.981 |
|                            | <a href="#">CEU_GENO_PANEL</a>     | European            | 68                 | IG     | 0.147                          | 0.853 | 0.655 | 0.074   | 0.926 |
|                            | <a href="#">AAM_GENO_PANEL</a>     | African American    | 122                | IG     | 0.148                          | 0.852 | 0.584 | 0.074   | 0.926 |
|                            | <a href="#">CHB_GENO_PANEL</a>     | Asian               | 90                 | IG     | 0.089                          | 0.911 | 1.000 | 0.044   | 0.956 |
|                            | <a href="#">YRI_GENO_PANEL</a>     | Sub-Saharan African | 120                | IG     | 0.017                          | 0.983 | 1.000 | 0.008   | 0.992 |
|                            | <a href="#">JPT_GENO_PANEL</a>     | Asian               | 24                 | IG     |                                | 1.000 |       |         | 1.000 |

Fuente: [www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp\\_ref.cgi?rs=361525](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=361525)

#### 2.4.2 Factor Inhibidor de Migración de Macrófagos (MIF)

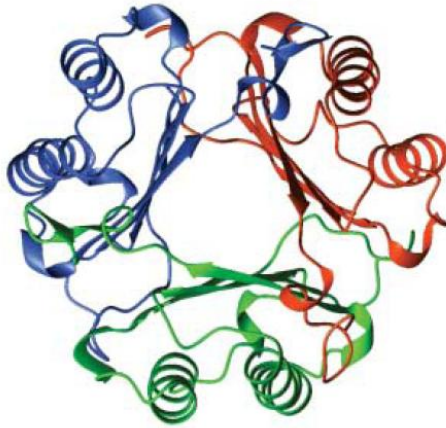
El factor inhibidor de la migración de macrófagos fue la primera citoquina en ser identificada, descubierta por Bloom et. al, en 1966, definida originalmente como un compuesto responsable de la inhibición de la migración de macrófagos al azar durante la respuesta de hipersensibilidad de tipo retardado.

MIF es una proteína muy conservada evolutivamente de 12,5 kDa, con una estructura tridimensional de homotrímero como se muestra en la figura 6, el cual presenta una marcada homología estructural con algunas enzimas microbianas; sin embargo no presenta homología alguna con cualquiera de las otras citoquinas (Calandra and Roger 2003). Este factor es una proteína ubicua que expresa actividades proinflamatorias, hormonales y enzimáticas (R. P. Donn 2001); el cual

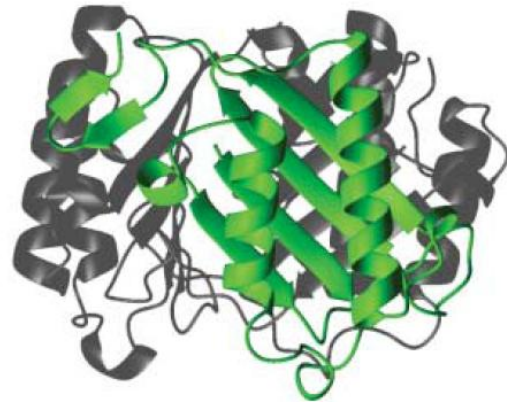
es un elemento constitutivo de defensa antimicrobial del anfitrión y de la respuesta al estrés promovido por la función inflamatoria de los sistemas inmune innato y adquirido.

**Figura 6:** Imagen tridimensional de la proteína codificada por el gen MIF.

*Vista Superior de la proteína MIF*



*Vista Lateral de la proteína MIF*



Fuente: Calandra and Roger 2003

Aunque el MIF fue descrito por primera vez como una citoquina principalmente de la respuesta inmune de tipo adaptativa, al relacionarse directamente con las células T, cumple también funciones importantes dentro del sistema inmune innato. Donde los patrones de expresión de MIF se han demostrado desde el inicio de la inflamación, producidos tanto por células T, como por monocitos, macrófagos, células dendríticas, células B, neutrófilos, eosinófilos, mastocitos y basófilos (Kudrin, Scott et al. 2006). En contraste con la mayoría de las citocinas, el MIF se expresa constitutivamente y se almacena en las piscinas intracelular, y por lo tanto no requiere de la síntesis de novo de proteínas antes de la secreción; la cual se estimula ya sea ante la presencia del patógeno, de alguno de sus productos, de células proinflamatorias o ante el estrés oxidativo (Pascal Renner 2005). Al igual que la IL-1, el factor básico de crecimiento de fibroblastos y una forma de ciclofilina, el MIF carece de una secuencia líder amino-terminal, lo que indica que se libera de las células mediante una vía de secreción de proteínas no convencionales; y en particular se expresa en células y tejidos que están en contacto directo con el entorno natural del huésped (Calandra and Roger 2003).

La liberación del MIF por las células inmunes es regulada por los glucocorticoides, en dosis bajas la producción del MIF se estimula mientras que en dosis altas la producción de MIF se inhibe (Aeberli, Leech et al. 2006). La presencia del MIF aumenta la función fagocítica, la secreción de macrófagos y actúa como cofactor activando la producción de células T y regulando las actividades proinflamatorias posteriores involucradas en las lesiones precancerosas (R. P. Donn 2001); en general el MIF promueve actividades biológicas pro-inflamatorias de tipo paracrino, endocrino y autocrino como regulador de la respuesta inmune (Pascal Renner 2005).

Los investigadores han proporcionado pruebas de que el MIF directa o indirectamente promueve la producción o la expresión de un amplio grupo de moléculas proinflamatorias, incluyendo citoquinas como el TNF, IFN- $\gamma$ , IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-6, IL-8, óxido nítrico, COX2, productos de la ruta del ácido araquidónico y varias metaloproteinasas de la matriz y sus inhibidores (Calandra, Froidevaux et al. 2003). El factor inhibidor de la migración de macrófagos puede ejercer su actividad biológica como se muestra en la figura 7(a) a través de una vía clásica mediada por receptor o por medio de una vía endocítica no clásica. MIF se ha demostrado que se une a CD74 y fosforila la señal reguladora extracelular de quinasa 1 proteínas (ERK1) /ERK2. promoviendo el crecimiento celular y la activación de factores de transcripción cruciales para la expresión del receptor tipo TLR4 cuyo gen codifica la molécula de transducción de señales del complejo receptor de la endotoxina, facilitando así la detección de partículas que la contienen y además promueve la producción de mediadores proinflamatorios, incluyendo otras citoquinas y el óxido nítrico. MIF se une a la proteína de JUN y JAB1 que inducen la degradación de las células inhibitoras de proliferación KIP1, lo que conduce a la detención del ciclo celular y la apoptosis (Calandra and Roger 2003).

La inducción y la regulación de la respuesta inflamatoria innata de las células inmunes por el MIF, se observa en la figura 7 (b) donde este factor regula el aumento de la expresión de TLR4 por los macrófagos que permite un rápido reconocimiento de la endotoxina que contienen las bacterias, induciendo la producción de citocinas (incluyendo MIF), el óxido nítrico (NO) y otros mediadores. Después de la expresión, el MIF se activa una cascada de eventos que consiste en la fosforilación de ERK1/ERK2, la inducción de la fosfolipasa citoplasmática A2 (PLA2), el ácido araquidónico, JUN quinasa N-terminal activada (JNK) y la

prostaglandina E2 (PGE2). A través de la generación de actividad oxidorreductasa y de la ciclooxigenasa 2 (COX2), el MIF induce la activación de la apoptosis mediada por el estrés oxidativo y por p53. Por otra parte el MIF regula los efectos inmunosupresores de los glucocorticoides a nivel transcripcional y post-transcripcional, como se representa en la figura 7(c), el MIF inhibe la inducción mediada por glucocorticoides del inhibidor del factor nuclear kB (IκB), de la actividad de PLA2 y la producción de ácido araquidónico, iNOS, induciendo sintasa de óxido nítrico (Calandra and Roger 2003; Pascal Renner 2005).

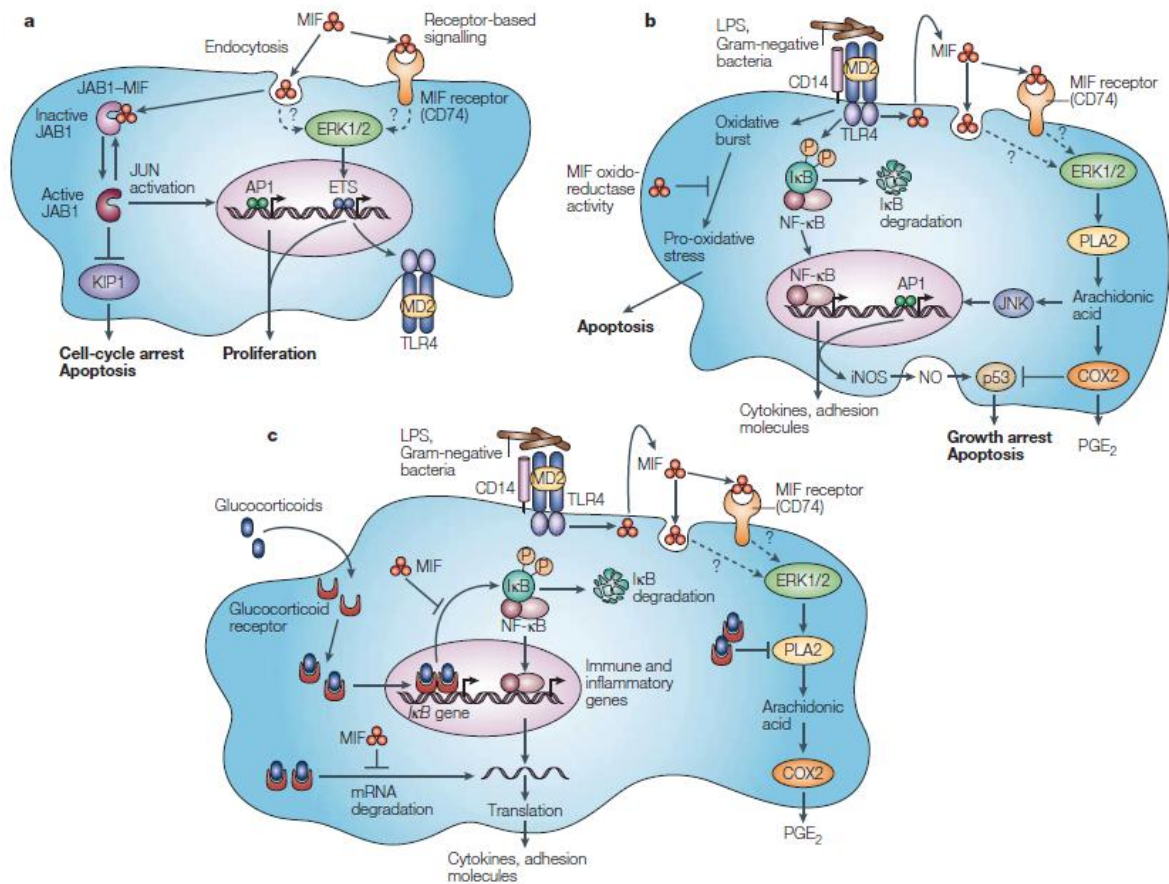
Varios estudios han demostrado que el MIF debido a sus propiedades pluripotentes participa en la regulación de la proliferación y diferenciación celular, y se relaciona con shock séptico, enfermedad inflamatoria crónica y autoinmune (Conroy, Mawhinney et al. 2010). En el contexto de la formación de tumores, la sobreexpresión del MIF se ha observado en la próstata, pulmón, la piel, la hipófisis, el cerebro, de mama, el hígado, y los tumores de colon (Pascal Renner 2005). Por otra parte, (Hudson, Shoabi et al. 1999) demostró que p53, el guardián del genoma, pueden ser funcionalmente inactivados por MIF. Este descubrimiento ha ayudado a establecer un vínculo entre la inflamación y carcinogénesis en vista del papel central de p53. En conjunto, la inhibición de p53 por el MIF puede ser crítico para el desarrollo de tumores que se presentan en los sitios de inflamación crónica, como el cáncer de colon en la colitis ulcerosa y en este caso el cáncer gástrico (Ohkawara, Nishihira et al. 2005).

*H. pylori* ha demostrado recientemente que induce la producción del factor inhibidor de la migración de macrófagos (MIF) en varios tipos de células. Y su acción está relacionada con las diferentes lesiones que conllevan al carcinoma gástrico. En varios estudios se ha observado que la expresión del MIF fue significativamente mayor en el antro que en el cuerpo del estomago, al igual que en el porcentaje en células T, a diferencia en células epiteliales gástricas y en macrófagos donde el porcentaje de MIF se incrementó tanto en el antro como el cuerpo; estos hallazgos implican que la inflamación crónica inducida por *H. pylori* es más grave en el antro que en el cuerpo (Tsai and Hsu 2010); teniendo en cuenta lo mencionado inicialmente y los resultados de varios estudios histológicos se ha observado que la gastritis crónica es predominante en el antro al igual que las lesiones precancerosas incluyendo la gastritis atrófica, metaplasia intestinal y displasia, por lo tanto, se ha postulado que el aumento de expresión de MIF en el antro, por células inflamatorias, así como por las células epiteliales gástricas,



puede ser uno de los factores que contribuyen al progreso de gastritis crónica a cáncer gástrico (Wong, Zhu et al. 2009). De hecho, estudios han demostrado que el MIF también puede contribuir en múltiples aspectos de la progresión oncogénica, modulando la proliferación celular, la angiogénesis del tumor, y la actividad supresor de tumores; donde recientemente las evidencias han llevado a postular el MIF como el factor que une la inflamación con la carcinogénesis. (Harry Hua-Xia 2004; Zhong-Wu Li 2010).

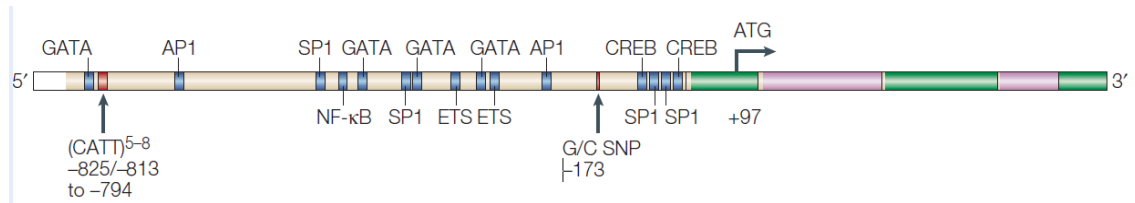
**Figura 7.** Modelo de acción del Factor Inhibidor de la Migración de Macrófagos.



Fuente: Calandra and Roger 2003

El gen que codifica el factor inhibidor de la migración de macrófagos en el genoma humano está localizado en el locus 22q11.2, para el cual no existe algún pseudogen, ni presenta alguna homología con otro gen, en el genoma humano (Calandra and Roger 2003).

**Figura 8.** Imagen del gen del Factor de Migración de Macrófagos en humanos.



Fuente: Calandra and Roger 2003

El gen del factor inhibidor de la migración de macrófagos en humanos, como se representa en la figura 8, se compone de tres exones cortos (recuadros verdes) de 107, 172 y 66 pares de bases, y dos intrones (cajas de color rosa) de 188 y 94 pares de bases. Su región 5' contiene varias secuencias consenso de unión al ADN de los factores de transcripción, en particular la proteína activadora 1 (AP1), factor nuclear kB (NF-kB), ETS, GATA, elemento de respuesta a proteínas vinculantes SP1 y AMPc (CREB). Este gen presenta dos polimorfismos importantes (flechas), una secuencia de tetranucleótidos (CATT) que se repite de cinco a ocho veces en la posición 794 y un polimorfismo de nucleótido único (SNP) en la posición 173, donde ocurre un intercambio o transversión de una base purina (guanina) por una pirimidina (citocina) G/C con rs755622, el cual se reporta en la tabla 6; polimorfismo que se ha asociado con la severidad de varias enfermedades inflamatorias, incluido el cáncer gástrico, debido a que este aumenta la producción del factor (Conroy, Mawhinney et al. 2010).

**Tabla 6.** Referencia del SNP MIF-173 rs755622.

| Referencia SNP                |                                | Alelo              |   |
|-------------------------------|--------------------------------|--------------------|---|
| Organismo                     | Humano ( <i>Homo sapiens</i> ) | Clase de Variación | SNP: Polimorfismo de un nucleótido simple |
| Tipo molécula                 | Genómica                       | Ref. SNP Alelos    | C/G                                       |
| Creado/Modificado en estruct. | 86/132                         | Alelo ancestral    | G   |
| Mapa del Genoma tipo          | 37.1                           | Asociación Clínica | Desconocida                               |
| Citación                      | Pubmed                         |                    |   |

Fuente: [www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp\\_ref.cgi?rs=755622](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=755622)

La diversidad del polimorfismo de nucleótido único rs755622 se presenta en la población de acuerdo a lo reportado por la NCBI en la tabla 7.



**Tabla 7.** Frecuencia de los genotipos G/G, G/C y C/C en la población para el SNP rs755622

| ss#                             | Sample Ascertainment                 |                     |                         |        | Genotype Detail <sup>NEW</sup> |       |       |       | Alleles |       |
|---------------------------------|--------------------------------------|---------------------|-------------------------|--------|--------------------------------|-------|-------|-------|---------|-------|
|                                 | Population                           | Individual Group    | Chrom. Sample Cnt.      | Source | C/C                            | C/G   | G/G   | HWP   | C       | G     |
| <a href="#">ss109873</a>        | <a href="#">SC_12_A</a>              | Asian               | 22                      | IG     | 0.364                          | 0.636 | 0.479 | 0.182 | 0.818   |       |
|                                 | <a href="#">SC_12_AA</a>             | African American    | 22                      | IG     | 0.636                          | 0.364 | 0.150 | 0.318 | 0.682   |       |
|                                 | <a href="#">SC_12_C</a>              | European            | 8                       | IG     | 1.000                          |       |       |       | 1.000   |       |
|                                 | <a href="#">CEPH</a>                 |                     | 184                     | AF     |                                |       |       |       | 0.840   | 0.160 |
| <a href="#">ss12675533</a>      | <a href="#">P1</a>                   |                     | 204                     | GF     | 0.687                          | 0.225 | 0.088 | 0.003 | 0.799   | 0.200 |
|                                 | <a href="#">CAUC1</a>                |                     | 62                      | GF     | 0.774                          | 0.194 | 0.032 | 0.439 | 0.871   | 0.129 |
|                                 | <a href="#">AFR1</a>                 |                     | 48                      | GF     | 0.500                          | 0.208 | 0.292 | 0.010 | 0.604   | 0.396 |
|                                 | <a href="#">HISP1</a>                |                     | 46                      | GF     | 0.696                          | 0.261 | 0.043 | 0.655 | 0.826   | 0.174 |
|                                 | <a href="#">PAC1</a>                 |                     | 48                      | GF     | 0.750                          | 0.250 |       | 0.527 | 0.875   | 0.125 |
| <a href="#">ss127331790</a>     | <a href="#">pilot.1.CEU</a>          |                     | 72                      | AF     |                                |       |       |       | 0.778   | 0.222 |
| <a href="#">ss138340294</a>     | <a href="#">ENSEMBL_Watson</a>       |                     | 2                       | IG     | 1.000                          |       |       |       | 0.500   | 0.500 |
| <a href="#">ss168973856</a>     | <a href="#">YRI</a>                  | Sub-Saharan African | 2                       | IG     | 1.000                          |       |       |       | 1.000   |       |
| <a href="#">ss171863597</a>     | <a href="#">PGP</a>                  |                     | 2                       | IG     | 1.000                          |       |       |       | 0.500   | 0.500 |
| <a href="#">ss28458868</a>      | <a href="#">CP</a>                   |                     | 156                     | AF     |                                |       |       |       | 0.830   | 0.170 |
|                                 | <a href="#">JPK2</a>                 |                     | 200                     | AF     |                                |       |       |       | 0.820   | 0.180 |
| <a href="#">ss44318452</a>      | <a href="#">AoD_African_American</a> |                     | 90                      | AF     |                                |       |       |       | 0.650   | 0.350 |
|                                 | <a href="#">AoD_Caucasian</a>        |                     | 92                      | AF     |                                |       |       |       | 0.910   | 0.090 |
| <a href="#">ss49853574</a>      | <a href="#">EGP_YORUB-PANEL</a>      | Sub-Saharan African | 24                      | IG     | 0.167                          | 0.667 | 0.167 | 0.251 | 0.500   | 0.500 |
|                                 | <a href="#">EGP_HISP-PANEL</a>       | Hispanic            | 44                      | IG     | 0.500                          | 0.500 |       | 0.150 | 0.750   | 0.250 |
| Referencia SNP Resumen Genotipo |                                      |                     | Total de cada individuo |        | C/C                            | C/G   | G/G   |       |         |       |
| rs755622                        |                                      |                     | 132                     |        | 9                              | 54    | 61    |       |         |       |

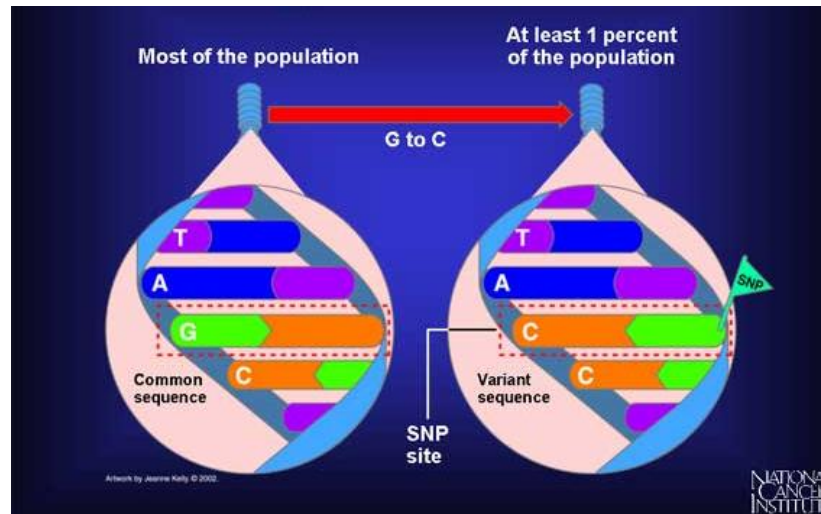
Fuente: [www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp\\_ref.cgi?rs=755622](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=755622)

Un análisis multivariado realizado en una población de China mostró una relación directa de los polimorfismos del MIF con la infección de *Helicobacter pylori*, donde encontraron marcadas diferencias de su expresión en los pacientes con gastritis, metaplasia intestinal, displasia y cáncer gástrico; definiendo que el genotipo del MIF-173 GC o MIF-173 portadores del alelo C se asocia significativamente con un mayor riesgo para la progresión de las lesiones de gastritis crónica atrófica severa y que sujetos que presentan MIF-173 con genotipo CC presentan un mayor riesgo de metaplasia intestinal (Li, Wu et al. 2010). Convirtiéndose en un gen candidato de susceptibilidad para las enfermedades relacionadas con infección por *H. pylori*.

## 2.5 MARCADORES GENÉTICOS: POLIMORFISMOS DE NUCLEÓTIDO SIMPLE (SNP)

Un marcador genético es un locus especial de DNA con al menos una base diferente entre mínimo dos individuos, esta variación debe ser principalmente detectable y con ubicación conocida en el genoma humano, la cual se puede utilizar para identificar las células, los individuos o las especies. La forma más abundante de la variación en el genoma humano, aproximadamente el 90% son polimorfismos de nucleótido único (SNP). Básicamente, se trata de la variación de tan sólo una base, lo que significa que una base es sustituida por otra, tal como una G (guanina), es sustituida por una de las otras tres bases C (citosina), T (timina) y A (adenina), como se ilustra en la figura (Andreas Ziegler 2010); mecanismo de mutación para los cuales se diferencian dos tipos de SNP, como son las transiciones: purina-purina (A, G) o pirimidina-pirimidina (C, T) y los intercambios o transversiones: purina-pirimidina o pirimidina-purina (A, C, A, T, G, C, G, T) (Sherry ST 2001).

**Figura 9.** Representación de un Polimorfismo de Nucleótido Simple (SNPs)



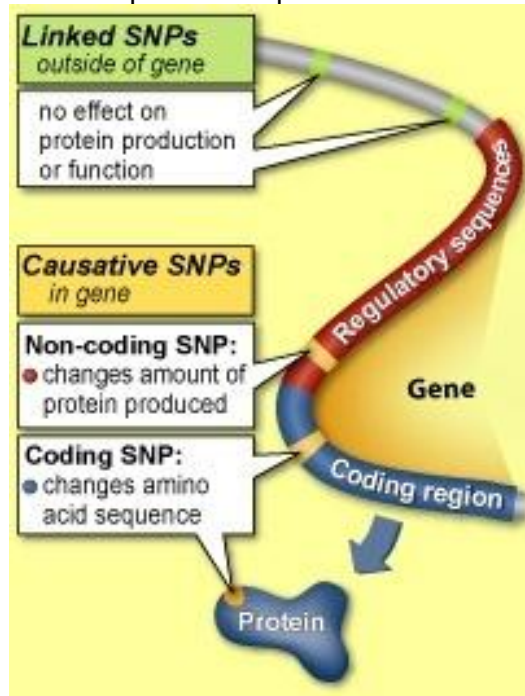
Fuente: [www.cancer.gov/cancertopics/understandingcancer/geneticvariation](http://www.cancer.gov/cancertopics/understandingcancer/geneticvariation)

En promedio, los SNPs ocurren en más del 1% de la población humana en general y son compartidos aproximadamente por el 85% de las poblaciones, pero presentan diferencias en las frecuencias de los alelos; además, como son evolutivamente estables, no cambian mucho de una generación a otra lo que

facilita su seguimiento en los estudios de poblaciones. Aunque un único SNP brinda poca información, su fuerza decisiva radica en que son estables, frecuentes y que algunos se encuentran en la región codificadora o en la promotora del gen y por lo tanto se pueden ver directamente como variaciones candidatas para la enfermedad (Andreas Ziegler 2010).

Según el Genetic Science Learning Center (2011), los SNPs se dividen en dos categorías principales, como se representa en la figura 10: **1. SNPs Vinculados** (también llamados SNP indicativo), que no residen dentro de los genes y no afectan la función de proteínas, sin embargo, se asocian con una respuesta a un medicamento en particular o al riesgo de contraer una determinada enfermedad. **2. SNP causal**, los cuales afectan el funcionamiento de una proteína, se correlacionan con una enfermedad o influyen en la respuesta de una persona a la medicación; este a su vez se divide en los SNPs de codificación, que se encuentran dentro de la región codificante de un gen, los cuales cambian la secuencia de aminoácidos de la proteína producto del gen y los SNPs no codificantes, que se encuentran dentro de las secuencias reguladoras del gen y cambian el nivel de la expresión génica y, por tanto, la cantidad de ARN y de la proteína que se produce.

**Figura 10.** Representación de las posibles implicaciones de un SNP en el genoma.



Fuente: [learn.genetics.utah.edu/content/health/pharma/snips/](http://learn.genetics.utah.edu/content/health/pharma/snips/)

Teniendo en cuenta el planteamiento anterior, es importante aclarar que muchas enfermedades comunes en los seres humanos no son causadas por una variación genética dentro de un solo gen, pero se ven influidas por las complejas interacciones entre múltiples genes, factores ambientales y estilo de vida, como lo es el cáncer gástrico con su carácter multifactorial, por lo tanto, es de gran importancia conocer la predisposición genética de una persona, o el potencial de un individuo de desarrollar esta patología con base en los genes y factores hereditarios; puesto que los recientes estudios de SNPs prometen revolucionar no sólo el proceso de detección de la enfermedad, sino también la práctica de la medicina preventiva y curativa (NCI 2006).

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 OBJETIVO GENERAL**

Establecer la asociación de los polimorfismos genéticos involucrados en los procesos inflamatorios (MIF y TNF $\alpha$ ) con el riesgo a desarrollar lesiones gástricas preneoplásicas como marcadores de susceptibilidad en una población del Departamento del Cauca.

#### **3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- ✧ Estandarizar y validar técnicas moleculares para el estudio de polimorfismos genéticos de las citoquinas MIF y TNF en la población de estudio.
  
- ✧ Determinar la frecuencia de los polimorfismos genéticos de las citoquinas proinflamatorias MIF y TNF y su relación con el desarrollo de lesiones gástricas preneoplásicas en la población de estudio.
  
- ✧ Identificar posibles relaciones causales y estimar riesgo de desarrollar lesiones gástricas preneoplásicas con base en la interacción entre indicadores epidemiológicos y de susceptibilidad genética.

## 4. METODOLOGÍA Y DISEÑO EXPERIMENTAL

### 4.1 POBLACIÓN DE ESTUDIO

Se tomaron muestras de ADN extraído a partir de biopsia gástrica de 258 pacientes con lesiones preneoplásicas confirmados por endoscopia y examen patológico, infectados con *Helicobacter pylori*, mayores de 18 años, sin discriminación de sexo o etnia, que acudieron a la Unidad de Gastroenterología del Hospital Susana López de Valencia, del Hospital Universitario San José y Endovideo 2000 en la ciudad de Popayán, durante un periodo de 24 meses. Los pacientes fueron clasificados de acuerdo al tipo de lesión como: gastritis crónica atrófica, metaplasia, displasia, cáncer gástrico y pacientes sin atrofia (grupo de referencia), de acuerdo al análisis histopatológico. Previamente cada uno de los pacientes firmo el consentimiento informado y diligencio una encuesta, aceptada por el comité de ética de la universidad del Cauca.

### 4.2 PRUEBAS MOLECULARES

Las pruebas moleculares utilizadas se basaron en la amplificación del material genético a través de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) y la identificación de la variación de los genes TNF- $\alpha$  y MIF por medio de RFLPs, con el fin de identificar la relación entre los polimorfismos TNF $\alpha$ -238, TNF $\alpha$ -308 y MIF-173 con las diferentes lesiones preneoplásicas.

#### 4.2.1 Genotipificación de TNF $\alpha$ -308 G/A



Reacción en Cadena de la Polimerasa:

##### *Componentes Empleados*

- DNA templete
- Primer Forward: 5'-ATC TGG AGG AAG CGG TAG TG-3'

- Primer Reverse: 5´-AAT AGG TTT TGA GGG CCA TG-3´
- dNTPs mix, 10mM de cada dNTP
- GoTaq DNA Polymerase
- 5X Green GoTaq. Flexi Buffer
- MgCl<sub>2</sub>, 25mM
- Agua Libre de Nucleasas

Para la confiabilidad de la reacción se incluyo:  
 Control positivo: muestra de DNA código GCP116  
 Control negativo: sin DNA templete.

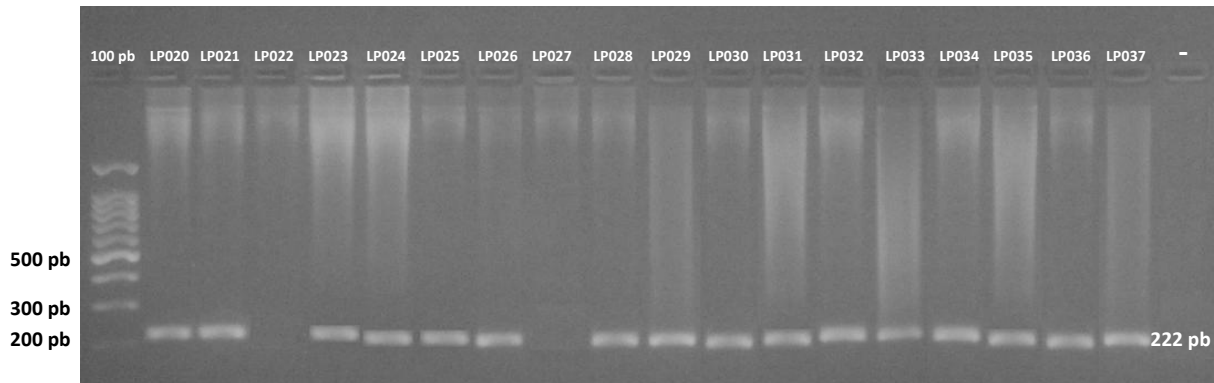
Para un volumen final de Reacción 25 µl se utilizaron las siguientes cantidades de cada componente, organizadas en el orden de incorporación:

| <b>COMPONENTE</b>            | <b>VOLUMEN</b> |
|------------------------------|----------------|
| dNTPs mix                    | 1,5 µl         |
| Primer Forward               | 1,5 µl         |
| Primer Reverse               | 1,5 µl         |
| 5X Green GoTaq. Flexi Buffer | 3,0 µl         |
| MgCl <sub>2</sub>            | 2,0 µl         |
| GoTaq DNA Polymerase         | 0,2 µl         |
| Agua Libre de Nucleasas      | 11,3 µl        |
| DNA                          | 4,0 µl         |
| <b>Total</b>                 | <b>25 µl</b>   |


Las condiciones para la reacción de amplificación, inician a 94°C durante 3 minutos, seguido de 35 ciclos distribuidos de la siguiente manera: Desnaturalización a 94°C por 30 segundos, con un alineamiento o anillado de 56°C durante 30 segundos y una extensión y elongación a 72°C por 30 segundos; finalmente se llevo a una extensión final en 72°C durante 5 minutos.

Se verifico la amplificación del fragmento del gen con la presencia de la banda de 222pb, mediante electroforesis de 7,0 µl de producto de PCR en gel de agarosa al 2% con Bromuro de Etidio (50 µg/ mL). Corrida a 100 voltios durante 40 minutos y es visualizada por transiluminación con luz UV.

**Figura 11.** Visualización del producto de amplificación por PCR del gen TNFα-308

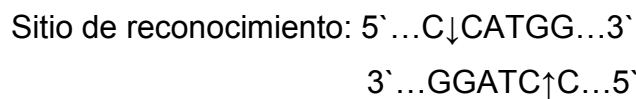


Carril 1, marcador de peso molecular de 100 pb; carril 2-19 muestras de pacientes con lesiones gástricas precancerosas y carril 20 control negativo.

 Polimorfismos de Longitud de Fragmentos de Restricción:

*Componentes Empleados*

- Producto PCR de amplificación de *TNFα-308*
- Enzima FastDigest *NcoI* x 100 reactions



- 10X FastDigest Green Buffer.

Para un volumen final de digestión de 20.1 µl se utilizaron las siguientes cantidades de cada componente, organizadas en el orden de incorporación:

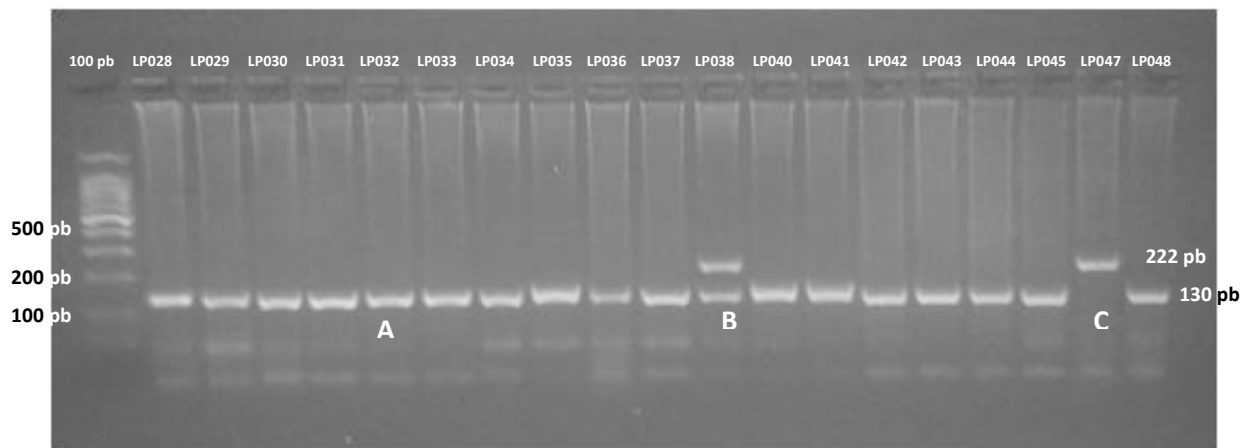
| <b>COMPONENTE</b>             | <b>VOLUMEN</b> |
|-------------------------------|----------------|
| Producto de PCR               | 18,0 µl        |
| Enzima FastDigest <i>NcoI</i> | 0,3 µl         |
| 10X FastDigest Green Buffer   | 1,8 µl         |
| <b>Total</b>                  | <b>20,1 µl</b> |



La digestión se realizó en un baño maría a 37 °C durante 20 minutos.

Se verificó el corte de la enzima mediante electroforesis en gel de agarosa al 3% con Bromuro de Etidio (50 µg/ mL). Corrida a 100 voltios durante 40 minutos y es visualizada por transiluminación con luz UV; observando un corte de 222bp en el fragmento del alelo mutado (TNFα-308 A), 130 y 20-bp del fragmento para el tipo de alelo silvestre (TNFα-308 G).

**Figura 12.** Visualización de la digestión de la enzima *NcoI* por RFLPs del SNP TNFα-308 G/A.



A: Homocigoto silvestre GG, bandas de 130pb y 20 pb B: Heterocigoto GA, bandas de 222pb, 130pb y 20 pb; C: Homocigoto mutado AA, banda 222pb. Carril 1, marcador de peso molecular de 100 pb y carriles de 2 a 20 muestras de pacientes con lesiones gástricas.

#### 4.2.2 Genotipificación de TNFα-238 G/A

 Reacción en Cadena de la Polimerasa:

##### *Componentes Empleados*

- DNA template
- Primer Forward: 5`-ATC TGG AGG AAG CGG TAG TG-3`
- Primer Reverse: 5´-AGA AGA CCC CCC TCG GAA CC-3`
- dNTPs mix, 10mM de cada dNTP
- GoTaq DNA Polymerase

- 5X Green GoTaq. Flexi Buffer
- MgCl<sub>2</sub>, 25mM
- Agua Libre de Nucleasas

Para la confiabilidad de la reacción se incluyo:  
 Control positivo: muestra de DNA código GCP116  
 Control negativo: sin DNA templete.

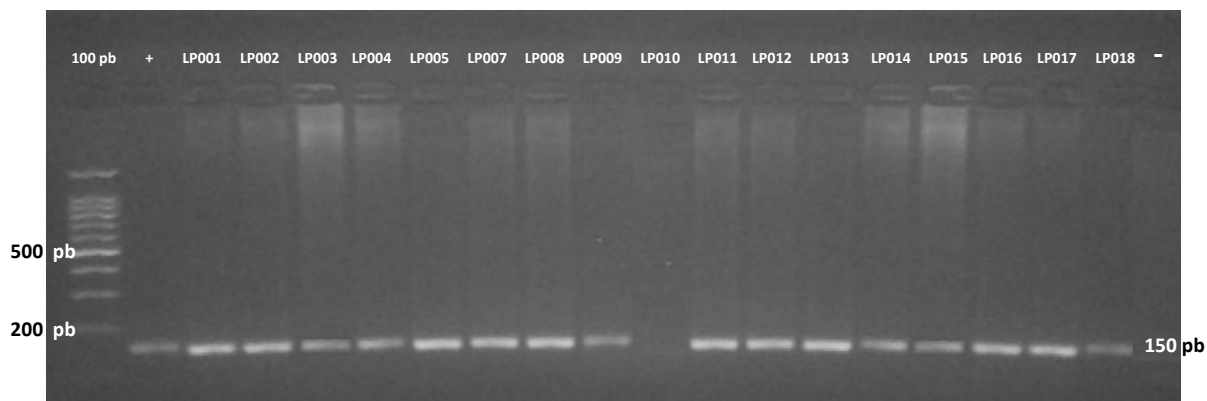
Para un volumen final de Reacción 25 µl se utilizaron las siguientes cantidades de cada componente, organizadas en el orden de incorporación:

| <b>COMPONENTE</b>            | <b>VOLUMEN</b> |
|------------------------------|----------------|
| dNTPs mix                    | 1,5 µl         |
| Primer Forward               | 1,5 µl         |
| Primer Reverse               | 1,5 µl         |
| 5X Green GoTaq. Flexi Buffer | 3,0 µl         |
| MgCl <sub>2</sub>            | 3,0 µl         |
| GoTaq DNA Polymerase         | 0,2 µl         |
| Agua Libre de Nucleasas      | 10,3 µl        |
| DNA                          | 4,0 µl         |
| <b>Total</b>                 | <b>25 µl</b>   |


Las condiciones para la reacción de amplificación, inician a 94°C durante 3 minutos, seguido de 35 ciclos distribuidos de la siguiente manera: Desnaturalización a 94°C por 30 segundos, con un alineamiento o anillado de 57°C durante 30 segundos y una extensión y elongación a 72°C por 30 segundos; finalmente se llevo a una extensión final en 72°C durante 5 minutos.

Se verifico la amplificación del fragmento del gen con la presencia de la banda de 150 pb, mediante electroforesis de 7,0 µl de producto de PCR en gel de agarosa al 3% con Bromuro de Etidio (50 µg/ mL). Corrida a 100 voltios durante 40 minutos y es visualizada por transiluminación con luz UV.

**Figura 13.** Visualización del producto de amplificación por PCR del gen TNF $\alpha$ -238



Carril 1, marcador de peso molecular de 100 pb; carril 2 control positivo; carril 3-19 muestras de pacientes con lesiones gástricas precancerosas y carril 20 control negativo.

 Polimorfismos de Longitud de Fragmentos de Restricción:

*Componentes Empleados*

- Producto PCR de amplificación de *TNF $\alpha$ -238*
- Enzima FastDigest *MspI* x 400 reactions

Sitio de reconocimiento: 5'...C↓CGG...3'

3'...GGC↑C...5'

- 10X FastDigest Green Buffer.

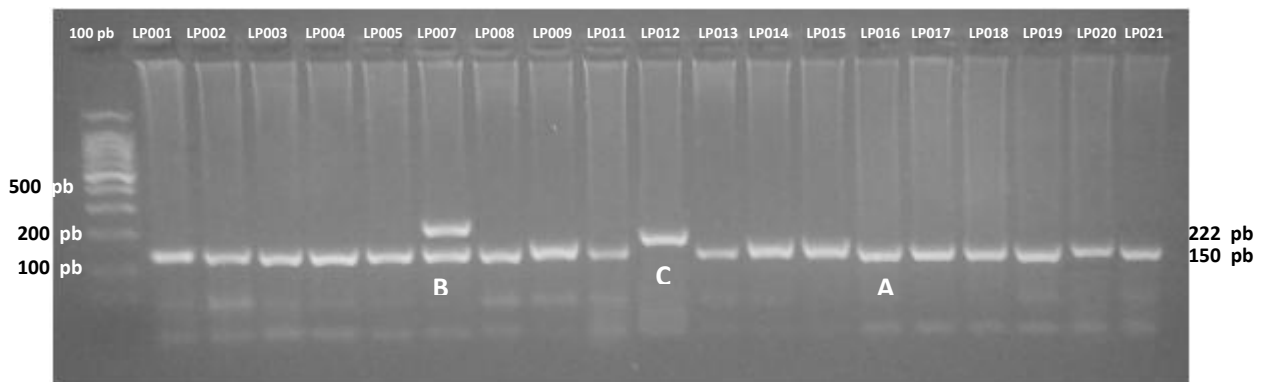
Para un volumen final de digestión de 20.3  $\mu$ l se utilizaron las siguientes cantidades de cada componente, organizadas en el orden de incorporación:

| <b>COMPONENTE</b>             | <b>VOLUMEN</b>                |
|-------------------------------|-------------------------------|
| Producto de PCR               | 18,0 $\mu$ l                  |
| Enzima FastDigest <i>MspI</i> | 0,5 $\mu$ l                   |
| 10X FastDigest Green Buffer   | 1,8 $\mu$ l                   |
| <b>Total</b>                  | <b>20,3 <math>\mu</math>l</b> |

La digestión se realizó en un baño maría a 37 °C durante 20 minutos.

Se verificó el corte de la enzima mediante electroforesis en gel de agarosa al 3% con Bromuro de Etidio (50 µg/ mL). Corrida a 100 voltios durante 40 minutos y es visualizada por transiluminación con luz UV; observando un corte de 150 bp en el fragmento del alelo mutado (TNF $\alpha$ -238 A), 130 y 20 bp del fragmento para el tipo de alelo silvestre (TNF $\alpha$ -238 G).

**Figura 14.** Visualización de la digestión de la enzima *MspI* por RFLPs del SNP TNF $\alpha$ -238 G/A.



A: Homocigoto silvestre GG, bandas de 130pb y 20 pb B: Heterocigoto GA, bandas de 150pb, 130pb y 20 pb; C: Homocigoto mutado AA, banda 150pb. Carril 1, marcador de peso molecular de 100 pb y de los carriles de 2 a 20 muestras de pacientes con lesiones gástricas.

#### 4.2.3 Genotipificación de *MIF-173 G/C*

🦋 Reacción en Cadena de la Polimerasa:

##### *Componentes Empleados*

- DNA template
- Primer Forward: 5`-ACT AAG AAA GAC CCG AGG C-3`
- Primer Reverse: 5`-GGG GCA CGT TGG TGT TTA C-3`
- dNTPs mix, 10mM de cada dNTP

- GoTaq DNA Polymerase
- 5X Green GoTaq. Flexi Buffer
- MgCl<sub>2</sub>, 25mM
- Agua Libre de Nucleasas

Para la confiabilidad de la reacción se incluyo:  
 Control positivo: muestra de DNA código GCP254  
 Control negativo: sin DNA templete.

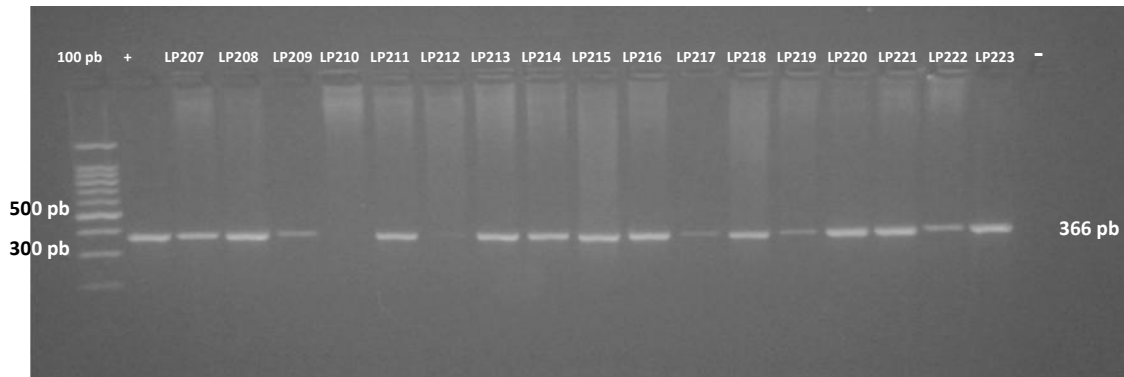
Para un volumen final de Reacción 25 µl se utilizaron las siguientes cantidades de cada componente, organizadas en el orden de incorporación:

| <b>COMPONENTE</b>            | <b>VOLUMEN</b> |
|------------------------------|----------------|
| dNTPs mix                    | 1,0 µl         |
| Primer Forward               | 1,5 µl         |
| Primer Reverse               | 1,5 µl         |
| 5X Green GoTaq. Flexi Buffer | 3,0 µl         |
| MgCl <sub>2</sub>            | 3,0 µl         |
| GoTaq DNA Polymerase         | 0,2 µl         |
| Agua Libre de Nucleasas      | 11,8 µl        |
| DNA                          | 3,0 µl         |
| <b>Total</b>                 | <b>25 µl</b>   |

Las condiciones para la reacción de amplificación, inician con una desnaturalización a 95°C durante 5 minutos, seguido de 30 ciclos distribuidos de la siguiente manera: desnaturalización a 95°C por 40 segundos, con un alineamiento o anillado de 63°C durante 40 segundos y una extensión y elongación a 72°C por 40 segundos. Finalmente se llevara a una extensión final en 72°C durante 5 minutos.

Se verifico la amplificación fragmento del gen con la presencia de la banda de 366 pb, mediante electroforesis de 7,0 µl de producto de PCR en gel de agarosa al 2% con Bromuro de Etidio (50 µg/ mL). Corrida a 100 voltios durante 40 minutos y es visualizada por transiluminación con luz UV.

**Figura 15.** Visualización del producto de amplificación por PCR del gen MIF-173.



Carril 1, marcador de peso molecular de 100 pb; carril 2 control positivo; carril 3 al 19 muestras de pacientes con lesiones gástricas precancerosas y carril 20 control negativo.

### Polimorfismos de Longitud de Fragmentos de Restricción:

#### *Componentes Requeridos*

- Producto PCR de amplificación de *MIF-173*
- Enzima FastDigest *AluI* x 100 reactions

Sitio de reconocimiento: 5`...AG↓CT...3`  
3`...TC↑GA...5`

- 10X FastDigest Green Buffer.

Para un volumen final de digestión de 20.3 µl se utilizaron las siguientes cantidades de cada componente, organizadas en el orden de incorporación:

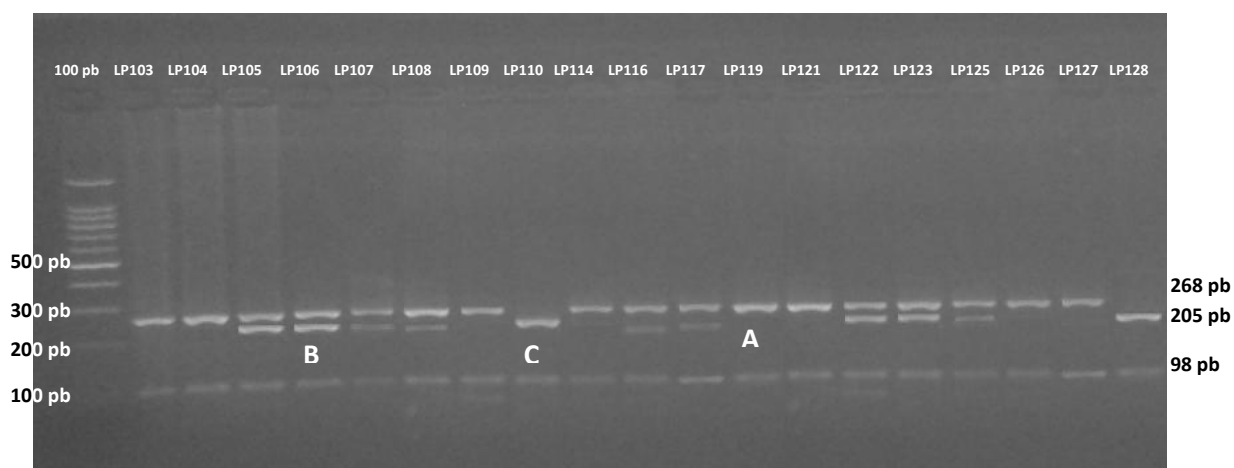
| <b>COMPONENTE</b> | <b>VOLUMEN</b> |
|-------------------|----------------|
| Producto de PCR   | 18,0 µl        |

|                               |                |
|-------------------------------|----------------|
| Enzima FastDigest <i>AluI</i> | 0,5 µl         |
| 10X FastDigest Green Buffer   | 1,8 µl         |
| <b>Total</b>                  | <b>20,3 µl</b> |

La digestión se realizó en un baño maría a 37 °C durante 20 minutos.

Se verificó el corte de la enzima mediante electroforesis en gel de agarosa al 2% con Bromuro de Etidio (50 µg/ mL). Corrida a 100 voltios durante 40 minutos y es visualizada por transiluminación con luz UV; observando un corte de 268pb, y 98pb para el genotipo homocigoto silvestre; para el heterocigoto en 268pb, 205pb 98pb y 63pb y finalmente para el homocigoto mutado en 205pb, 98pb y 63pb.

**Figura 16.** Visualización de la digestión de la enzima *AluI* por RFLPs del SNP MIF-173 G/C.



A: Homocigoto silvestre GG, bandas de 268pb y 98 pb B: Heterocigoto GC, bandas de 268pb, 205pb, 98pb y 63 pb; C: Homocigoto mutado CC, bandas 205pb, 98pb y 63pb. Carril 1, marcador de peso molecular de 100pb y carriles de 2 a 20 muestras de pacientes.

### 4.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

El análisis estadístico se realizó usando el software computacional *Statistical Package for Social Sciences-SPSS* de windows (version 18.0). Para determinar la asociación entre cada variable (sociodemográficas y factores de riesgo) y susceptibilidad a desarrollar lesiones precancerosas gástricas; se utilizó análisis

estadísticos descriptivos con tablas de contingencia, la prueba de Chi-cuadrado generada evaluó la hipótesis de asociación entre los estados de cada variable y las diferentes lesiones gástricas. Un nivel de probabilidad menor de 0.05 fue utilizado como criterio de significancia estadística. Se realizó igualmente, análisis estadísticos descriptivos para hallar la frecuencia de los genotipos de cada polimorfismo en la población en general y asociándolos a cada lesión.

La estimación de frecuencias de los alelos y el test para el equilibrio de Hardy Weinberg, fue realizado por el paquete estadístico OR.xls (Lodewijk A. 2002). El valor de  $p < 0,05$  fue considerado como estadísticamente significativo. La estimación de riesgo se realizó con regresión logística binaria para todos los genotipos en las diferentes lesiones; para MIF-173 G/C y TNF $\alpha$ -308 G/A, se aplicó un modelo recesivo, evaluando el riesgo con un OR >1, 95% IC de 1,00-  $\infty$ . Para los genotipos de TNF $\alpha$ -238 G/A, se aplicó un modelo dominante, evaluando su papel protector con un OR <1, 95% IC de 0,00 - 0,99.



## 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.1 CARACTERÍSTICAS SOCIODEMOGRÁFICAS DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO

Durante el período de estudio, ingresaron un total de 258 pacientes que cumplieron los criterios necesarios para hacer parte de la investigación, de los cuales el 28,7% (74) son gastritis crónica no atrófica (grupo de referencia) y el 71,3% (184) son pacientes que presentaron lesiones gástricas (casos), las cuales se distribuyen de la siguiente manera: gastritis crónica atrófica con el 10,5% (27), metaplasia intestinal con el 25,6% (66), displasia con el 11,2% (29) y el 24,0% (62) son pacientes que presentan cáncer gástrico.

La Tabla 8a indica las características sociodemográficas de la población de estudio, donde el sexo masculino representó el 47,3% de los casos agrupados (87/184) mientras que el sexo femenino constituyó el 52,7% (97/184); se observa variación en la frecuencia de los dos géneros en las diferentes lesiones ( $p < 0,05$ ), lo que hace de ésta una variable a tener en cuenta en las estrategias de promoción y prevención en salud pública para esta patología. A pesar que en los casos agrupados el porcentaje de mujeres es mayor que el de hombres, se tuvo una frecuencia mayor del sexo masculino (56,5%) en el grupo de los pacientes que presentan CG, lo cual es coherente con la literatura citada por varios autores a nivel nacional e internacional (Regino 2009; Compare, Rocco et al. 2010). Sin embargo, la alta prevalencia de lesiones en mujeres de esta población, pone en evidencia la necesidad de implementar programas que se enfoquen en este género, debido a que frecuentemente se subestima el riesgo a que desarrollen lesiones precancerosas.

De los 184 pacientes con algún tipo de lesión gástrica el 89,7% tienen una edad superior a 40 años, observándose una tendencia de encontrar pacientes de mayor edad en la medida en que avanzan las lesiones, lo cual se evidencia en el grupo de CG donde el 56,5% son mayores de 61 años, a diferencia del grupo control donde el 50,0% es población joven en un rango de edad de 18 a 39 años, variación donde las pruebas estadísticas tanto para las comparaciones de medias, como de proporciones son estadísticamente significativas con un  $p=0,001$  en ambos casos, como se muestra en la Tabla 8a.

Adicionalmente, la mayor proporción de pacientes fueron procedentes de áreas urbanas (56,0%); observándose que en GCA y MI una mayor proporción eran del área urbana (66,7% y 65,2% respectivamente), a diferencia de los pacientes con DISP y CG, donde el 55,2% y 53,2% respectivamente, son de áreas rurales. A pesar de la diferencia de los resultados, estos no fueron estadísticamente significativos ( $p= 0,128$ ). No obstante, es importante tener en cuenta estos datos a nivel epidemiológico, debido a que tiene coherencia en cuanto a la afirmación que este factor sociodemográfico puede influenciar en el desarrollo de la patología, debido a que generalmente son pacientes con bajos ingresos y con difícil accesibilidad al sistema de salud (Trasovares 2010).

Se hallaron diferencias estadísticas al comparar los ingresos mensuales de los pacientes con las diferentes lesiones ( $p= 0,001$ ) y con la presencia de alguna de ellas ( $p= 0,047$ ) como se especifica en la Tabla 8b; encontrando que el 78,3% de los casos son pacientes con ingresos mensuales menores a un salario mínimo mensual legal vigente, en proporción menor (19,6%) oscilan entre uno y tres salarios mínimos y tan solo el 2,2% de los casos tienen como ingresos más de cuatro salarios mínimos mensuales, cifra que está dada por pacientes con GCA y MI, puesto que no se relaciona ningún paciente de DISP con este ingreso y mucho menos en los de CG, para los cuales en su totalidad son personas con menos de un salario mínimo. Resultado que se ha correlacionado positivamente a la infección de *Helicobacter pylori* y con el riesgo a desarrollar CG, puesto que sus condiciones de vivienda, sus hábitos alimenticios y el sistema de salud los cobija, son condiciones que llevan a ser de esta población la más susceptible a desarrollar la patología (Ford and Axon 2010).

Un factor sociodemográfico importante es el nivel de educación y la ocupación que desempeñan los pacientes (Tabla 8b), para lo cual se encontró que el 20,1% de los casos no poseen ningún nivel de escolaridad y solo el 9,2% son técnicos o universitarios, encontrándose diferencia significativa entre los grupos. De igual manera, según las proporciones de la ocupación de los pacientes, el 34,8% de los casos son agricultores y el 29,3% son amas de casa, es evidente entonces, que las condiciones socioeconómicas bajas están relacionadas con el desarrollo y la evolución de las diferentes lesiones gástricas (Ford and Axon 2010).

**Tabla 8a.** Características sociodemográficas: sexo, edad y área de procedencia de la población de estudio.

| VARIABLE                   | CONTROL      |              | CASOS       |             |             |         |              | Valor P            | CASOS AGRUPADOS n (%) | Valor P |
|----------------------------|--------------|--------------|-------------|-------------|-------------|---------|--------------|--------------------|-----------------------|---------|
|                            | GCNA n (%)   | GCA n (%)    | MI n (%)    | DISP n (%)  | CG n (%)    | Valor P |              |                    |                       |         |
| <b>Total</b>               | 74 (100)     | 27 (100)     | 66 (100)    | 29 (100)    | 62 (100)    | NA      | 184 (100)    | NA                 |                       |         |
| <b>SEXO</b>                |              |              |             |             |             |         |              |                    |                       |         |
| Masculino                  | 22 (29,7)    | 17 (63,0)    | 20 (30,3)   | 15 (51,7)   | 35 (56,5)   |         | 87 (47,3)    | 0,010 <sup>a</sup> |                       |         |
| Femenino                   | 52 (70,3)    | 10 (37,0)    | 46 (69,7)   | 14 (48,3)   | 27 (43,5)   |         | 97 (52,7)    |                    |                       |         |
| <b>EDAD</b>                |              |              |             |             |             |         |              |                    |                       |         |
| Media ± DS                 | 42,35 ±16,41 | 59,37 ±16,06 | 51,85±14,30 | 63,38±15,66 | 63,81±12,29 |         | 58,80 ±15,05 | 0,001 <sup>b</sup> |                       |         |
| 18 – 39 años               | 37 (50,0)    | 4 (14,8)     | 12 (18,2)   | 2 (6,9)     | 1 (1,6)     |         | 19 (10,3)    |                    |                       |         |
| 40-60 años                 | 23 (31,1)    | 9 (33,3)     | 38 (57,6)   | 10 (34,5)   | 26 (31,9)   |         | 83 (45,1)    |                    |                       |         |
| ≥61                        | 14 (18,9)    | 14 (51,9)    | 16 (24,2)   | 17 (58,6)   | 35 (56,5)   |         | 82 (44,6)    | 0,001 <sup>a</sup> |                       |         |
| <b>ÁREA DE PROCEDENCIA</b> |              |              |             |             |             |         |              |                    |                       |         |
| Rural                      | 34 (45,9)    | 9 (33,3)     | 23 (34,8)   | 16 (55,2)   | 33 (53,2)   |         | 81 (44,0)    |                    |                       |         |
| Urbana                     | 40 (54,1)    | 18 (66,7)    | 43 (65,2)   | 13 (44,8)   | 29 (46,8)   |         | 103 (56,0)   | 0,779 <sup>a</sup> |                       |         |

GCNA: gastritis crónica no atrófica; GCA: Gastritis Crónica Atrófica; MI: Metaplasia Intestinal; DISP: Displasia; CG: Cáncer Gástrico; Lesiones Gástricas: GCA, MI, DISP, CG. p: probabilidad; NA: No Aplica; DS: desviación estándar. <sup>a</sup> Prueba de X<sup>2</sup> para la comparación de proporciones <sup>b</sup> Prueba de ANOVA para la comparaciones de medias.

**Tabla 8b.** Características sociodemográficas: ingresos mensuales, nivel de educación y ocupación de la población de estudio.

| VARIABLE                  | CONTROL    |          | CASOS     |          |           |          |            | Valor P | CASOS AGRUPADOS n (%) | Valor P |          |          |          |  |  |  |  |           |  |    |            |                    |
|---------------------------|------------|----------|-----------|----------|-----------|----------|------------|---------|-----------------------|---------|----------|----------|----------|--|--|--|--|-----------|--|----|------------|--------------------|
|                           | GCNA n (%) | 74 (100) | GCA n (%) | 27 (100) | MI n (%)  | 66 (100) | DISP n (%) |         |                       |         | 29 (100) | CG n (%) | 62 (100) |  |  |  |  |           |  |    |            |                    |
| <b>Total</b>              |            |          |           |          |           |          |            |         |                       |         | NA       |          |          |  |  |  |  | 184 (100) |  | NA |            |                    |
| <b>INGRESOS MENSUALES</b> |            |          |           |          |           |          |            |         |                       |         |          |          |          |  |  |  |  |           |  |    |            |                    |
| ≤ 1 smmlv                 | 47 (63,5)  |          | 14 (51,9) |          | 41 (62,1) |          | 27 (93,1)  |         | 62 (100)              |         |          |          |          |  |  |  |  |           |  |    | 144 (78,3) |                    |
| 1 - 3 smmlv               | 25 (33,8)  |          | 11 (40,7) |          | 23 (34,8) |          | 2 (6,9)    |         | 0 (0)                 |         |          |          |          |  |  |  |  |           |  |    | 36 (19,6)  |                    |
| ≥ 4 smmlv                 | 2 (2,7)    |          | 2 (7,4)   |          | 2 (3,0)   |          | 0 (0)      |         | 0 (0)                 |         |          |          |          |  |  |  |  |           |  |    | 4 (2,2)    | 0,047 <sup>a</sup> |
| <b>NIVEL DE EDUCACIÓN</b> |            |          |           |          |           |          |            |         |                       |         |          |          |          |  |  |  |  |           |  |    |            |                    |
| Ninguno                   | 6 (8,1)    |          | 2 (7,4)   |          | 9 (13,6)  |          | 6 (20,7)   |         | 20 (32,3)             |         |          |          |          |  |  |  |  |           |  |    | 37 (20,1)  |                    |
| Básico y Secundaria       | 46 (62,2)  |          | 21 (77,8) |          | 45 (68,2) |          | 22 (75,9)  |         | 42 (67,7)             |         |          |          |          |  |  |  |  |           |  |    | 130 (70,7) |                    |
| Técnico y Universitario   | 22 (29,7)  |          | 4 (14,8)  |          | 12 (18,2) |          | 1 (3,4)    |         | 0 (0)                 |         |          |          |          |  |  |  |  |           |  |    | 17 (9,2)   | 0,001 <sup>a</sup> |
| <b>OCUPACIÓN</b>          |            |          |           |          |           |          |            |         |                       |         |          |          |          |  |  |  |  |           |  |    |            |                    |
| Agricultor                | 15 (20,3)  |          | 8 (29,6)  |          | 12 (18,2) |          | 11 (37,9)  |         | 33 (53,2)             |         |          |          |          |  |  |  |  |           |  |    | 64 (34,8)  |                    |
| Ama de casa               | 23 (31,1)  |          | 6 (22,6)  |          | 24 (36,4) |          | 10 (34,5)  |         | 15 (24,2)             |         |          |          |          |  |  |  |  |           |  |    | 54 (29,3)  |                    |
| Otros                     | 36 (48,6)  |          | 13 (48,1) |          | 31 (47,0) |          | 8 (27,6)   |         | 14 (22,6)             |         |          |          |          |  |  |  |  |           |  |    | 66 (35,9)  | 0,053 <sup>a</sup> |

GCNA: gastritis crónica no atrófica; GCA: Gastritis Crónica Atrófica; MI: Metaplasia Intestinal; DISP: Displasia; CG: Cáncer Gástrico; Lesiones Gástricas: GCA, MI, DISP, CG. p: probabilidad; NA: No Aplica. <sup>a</sup> Prueba de  $\chi^2$  para la comparación de proporciones.

## 5.2 FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS AL DESARROLLO DE LESIONES PRECANCEROSAS GÁSTRICAS

Por otra parte, en relación a los hábitos que confieren riesgo (Tabla 9a), se establece que el consumo de cigarrillo y de alcohol, son factores que se han asociado al desarrollo de lesiones precancerosas gástricas; sin embargo, en la población de estudio el 60,9% de los pacientes no fuman en la actualidad ni han fumado y el 47,3% no consumen alcohol y aunque el 35,3% ocasionalmente consumen bebidas alcohólicas variadas, no sería un factor significativo a tener en cuenta en el análisis de riesgo ( $p=0,575$ ).

Los hábitos de alimentación son también un factor importante, que pueden tanto incrementar o disminuir el riesgo a desarrollar lesiones gástricas que terminen eventualmente desarrollando cáncer (Trasovares 2010). Se ha propuesto que un alto consumo de sal, alimentos preservados y de carnes ahumadas, son factores de riesgo para el desarrollo de cáncer gástrico. En los pacientes del estudio el consumo de sal es moderado (84,2%) y no se presenta diferencias estadísticamente significativas entre los grupos ( $p=0,254$ ), como se observa en la Tabla 9b. Adicionalmente, la mayor proporción de los pacientes (56,5%) consumen carnes ahumadas en distintas frecuencias (Tabla 9b), factor importante a tener en consideración para comprender algunas características epidemiológicas de la población de estudio, puesto que se encontró diferencias estadísticamente significativas entre la frecuencia del consumo de las carnes ahumadas en las diferentes lesiones ( $p= 0,009$ ); esto puede deberse al tratamiento que reciben estos alimentos, el cual conduce a la producción de compuestos que al ser consumidos favorecen el daño oxidativo de las células gástricas (Strumylait , Ži kut et al. 2006).

De otro lado, estudios epidemiológicos también han sugerido que el consumo de vegetales y frutas tienen un efecto protector al reducir el riesgo de cáncer gástrico, lo cual se ha atribuido a las propiedades antioxidantes que previenen la oxidación biológica e inhiben la formación de carcinógenos (Tsugane and Sasazuki 2007). En la población de estudio se encontró que el 53,3% de los pacientes, consume verduras frecuentemente y el 69,0% consumen frutas (Tabla 9c); encontrando para este estudio la no asociación de esta variable en el desarrollo de lesiones

gástricas. Aunque estos resultados difieren de las hipótesis antes planteadas, otros estudios realizados a nivel mundial respaldan este resultado, donde no se establece asociación entre el consumo de frutas o vegetales y CG (González, Pera et al. 2006).

En consideración a las condiciones de vivienda de los pacientes objeto de estudio, se encontró que el 25,5% tienen piso de tierra (Tabla 9d), el 42,4% conviven con más de cinco personas en su casa, el 44,6% consumen el agua sin tratar y solo 14,7% no la obtiene de acueducto (Tabla 9e), además, únicamente el 4,3% realizan sus deposiciones en campo abierto; variables que no arrojaron diferencias estadísticamente significativas al correlacionarlas con las diferentes lesiones ( $p>0,05$ ). Sin embargo, los resultados relacionan estos factores con estados socioeconómicos bajos, los cuales se han reportado ser más susceptibles a la transmisión de *H. pylori* y al desarrollo de cáncer gástrico (Go 2002; Suzuki, Hibi et al. 2007; Ford and Axon 2010).

Un factor cuyos resultados se pueden asociar con el desarrollo de las lesiones gástricas, es el humo de leña ( $p=0,001$ ), encontrando expuestos el 49,1% de los casos; además, existe una tendencia a aumentar sus proporciones en medida de la evolución de las lesiones, como se muestra en pacientes con CG donde el 84,6% están expuestos a este factor (Tabla 9f). Este hecho se relaciona puesto que en la combustión de la leña se liberan principalmente compuestos como monóxido de carbono, óxidos de sulfuro y nitrógeno, los cuales han sido clasificados por la IARC como posibles carcinógenos a humanos (Smoke and Smoking 2004).

Por último, es importante tener en cuenta que los antecedentes familiares de los pacientes ya sea de infección de *Helicobacter pylori* o CG es un factor importante de predisposición a desarrollar la enfermedad (Kanemitsu, Kawasaki et al. 2007); a pesar de ello, en este estudio como se muestra en la Tabla 9f, no se encontró significancia en la diferencia de los pacientes con y sin antecedentes, lo que lleva a plantear para este estudio que esta variable no se asocia al desarrollo de las lesiones gástricas.

**Tabla 9a.** Prevalencia de factores de riesgo asociados al desarrollo de lesiones preneoplásicas gástricas en la población de estudio (fumar y consumo de alcohol).

| VARIABLE                  | CONTROL    |          | CASOS     |           |           |           | Valor P | CASOS AGRUPADOS n (%) | Valor P            |
|---------------------------|------------|----------|-----------|-----------|-----------|-----------|---------|-----------------------|--------------------|
|                           | GCNA n (%) | 74 (100) | GCA n (%) | 27 (100)  | MI n (%)  | 66 (100)  |         |                       |                    |
| <b>Total</b>              |            |          |           |           |           |           |         | 184 (100)             | NA                 |
| <b>FUMAR</b>              |            |          |           |           |           |           |         |                       |                    |
| No Fuma                   | 55 (74,3)  |          | 16 (59,3) | 49 (74,2) | 16 (55,2) | 31 (50,0) |         | 112 (60,9)            |                    |
| Fumador Actual            | 9 (12,2)   |          | 4 (14,8)  | 5 (7,6)   | 2 (6,9)   | 7 (11,3)  |         | 18 (9,8)              |                    |
| Ex fumador                | 10 (13,5)  |          | 7 (25,9)  | 12 (18,2) | 11 (37,9) | 24 (38,7) |         | 54 (29,3)             | 0,029 <sup>a</sup> |
| <b>CONSUMO DE ALCOHOL</b> |            |          |           |           |           |           |         |                       |                    |
| Nunca                     | 38 (51,4)  |          | 10 (37,0) | 37 (56,1) | 11 (37,9) | 29 (46,8) |         | 87 (47,3)             |                    |
| Ocasionalmente            | 27 (36,5)  |          | 12 (44,4) | 22 (33,3) | 6 (20,7)  | 25 (40,3) |         | 65 (35,3)             |                    |
| Ex bebedor                | 9 (12,2)   |          | 5 (18,5)  | 7 (10,6)  | 12 (41,4) | 8 (12,9)  |         | 32 (17,4)             | 0,575 <sup>a</sup> |

GCNA: Gastritis Crónica No Atrófica; GCA: Gastritis Crónica Atrófica; MI: Metaplasia Intestinal; DISP: Displasia; CA: Cáncer Gástrico; Casos agrupados: GCA, MI, DISP, CG. p: probabilidad; NA: No Aplica; <sup>a</sup> Prueba de X<sup>2</sup> para la comparación de proporciones.

**Tabla 9b.** Prevalencia de factores de riesgo asociados al desarrollo de lesiones preneoplásicas gástricas en la población de estudio (ingesta de sal y consumo de carnes ahumadas).

| VARIABLE               | CONTROL    |          | CASOS     |          |           |          |            | Valor p | CASOS AGRUPADOS n (%) | Valor p   |                    |
|------------------------|------------|----------|-----------|----------|-----------|----------|------------|---------|-----------------------|-----------|--------------------|
|                        | GCNA n (%) | 74 (100) | GCA n (%) | 27 (100) | MI n (%)  | 66 (100) | DISP n (%) |         |                       |           | 29 (100)           |
| <b>Total</b>           |            |          |           |          |           |          |            |         |                       | 184 (100) | NA                 |
| <b>INGESTA DE SAL</b>  |            |          |           |          |           |          |            |         |                       |           |                    |
| Escasa                 | 2 (2,7)    |          | 1 (3,7)   |          | 2 (3,0)   |          | 1 (3,4)    |         | 1 (2,7)               |           | 5 (2,7)            |
| Moderada               | 63 (85,1)  |          | 22 (81,5) |          | 50 (75,8) |          | 24 (82,8)  |         | 59 (95,2)             |           | 155 (84,2)         |
| Exceso                 | 9 (12,2)   |          | 4 (14,8)  |          | 14 (21,2) |          | 4 (13,8)   |         | 2 (3,2)               |           | 24 (13,0)          |
|                        |            |          |           |          |           |          |            |         |                       |           | 0,982 <sup>a</sup> |
| <b>CARNES AHUMADAS</b> |            |          |           |          |           |          |            |         |                       |           |                    |
| Nunca                  | 42 (56,8)  |          | 11 (40,7) |          | 36 (54,5) |          | 14 (48,3)  |         | 19 (30,6)             |           | 80 (43,5)          |
| Ocasionalmente         | 11 (14,9)  |          | 2 (7,4)   |          | 5 (7,6)   |          | 2 (6,9)    |         | 6 (9,7)               |           | 15 (8,2)           |
| Frecuentemente         | 20 (27,0)  |          | 12 (44,4) |          | 24 (36,4) |          | 11 (37,9)  |         | 23 (37,1)             |           | 70 (38,0)          |
| Diariamente            | 1 (1,4)    |          | 2 (7,4)   |          | 1 (1,5)   |          | 2 (6,9)    |         | 14 (22,6)             |           | 19 (10,3)          |
|                        |            |          |           |          |           |          |            |         |                       |           | 0,001 <sup>a</sup> |

GCNA: Gastritis Crónica No Atrófica; GCA: Gastritis Crónica Atrófica; MI: Metaplasia Intestinal; DISP: Displasia; CA: Cáncer Gástrico; Casos agrupados: GCA, MI, DISP, CG. p: probabilidad; NA: No Aplica; <sup>a</sup> Prueba de X<sup>2</sup> para la comparación de proporciones.



**Tabla 9c.** Prevalencia de factores de riesgo asociados al desarrollo de lesiones preneoplásicas gástricas en la población de estudio (consumo de frutas y de verduras).

| VARIABLE                   | CONTROL    |          | CASOS     |           |            |           |            | Valor P | CASOS AGRUPADOS n (%) | Valor P |
|----------------------------|------------|----------|-----------|-----------|------------|-----------|------------|---------|-----------------------|---------|
|                            | GCNA n (%) | 74 (100) | GCA n (%) | MI n (%)  | DISP n (%) | CG n (%)  | 62 (100)   |         |                       |         |
| <b>Total</b>               |            |          | 27 (100)  | 66 (100)  | 29 (100)   | 62 (100)  |            |         | NA                    |         |
| <b>CONSUMO DE FRUTAS</b>   |            |          |           |           |            |           |            |         |                       |         |
| Nunca                      | 3 (4,1)    |          | 1 (3,7)   | 4 (6,1)   | 2 (6,9)    | 3 (4,8)   | 10 (5,4)   |         |                       |         |
| Ocasionalmente             | 1 (1,4)    |          | 0 (0)     | 0 (0)     | 0 (0)      | 2 (3,2)   | 2 (1,1)    |         |                       |         |
| Frecuentemente             | 48 (64,9)  |          | 20 (74,1) | 50 (75,8) | 17 (58,6)  | 40 (64,5) | 127 (69,0) |         |                       |         |
| Diariamente                | 22 (29,7)  |          | 6 (22,2)  | 12 (18,2) | 10 (34,5)  | 17 (27,4) | 45 (24,5)  |         | 0,818 <sup>a</sup>    |         |
| <b>CONSUMO DE VERDURAS</b> |            |          |           |           |            |           |            |         |                       |         |
| Nunca                      | 3 (4,1)    |          | 0 (0)     | 8 (12,1)  | 6 (20,7)   | 4 (6,5)   | 18 (9,8)   |         |                       |         |
| Ocasionalmente             | 0 (0)      |          | 0 (0)     | 1 (1,5)   | 0 (0)      | 2 (3,2)   | 3 (1,6)    |         |                       |         |
| Frecuentemente             | 38 (51,4)  |          | 16 (59,3) | 31 (47,0) | 12 (41,4)  | 39 (62,9) | 98 (53,3)  |         |                       |         |
| Diariamente                | 33 (44,,6) |          | 11 (40,7) | 26 (39,4) | 11 (37,9)  | 17 (27,4) | 65 (35,3)  |         | 0,207 <sup>a</sup>    |         |

GCNA: Gastritis Crónica No Atrófica; GCA: Gastritis Crónica Atrófica; MI: Metaplasia Intestinal; DISP: Displasia; CA: Cáncer Gástrico; Casos agrupados: GCA, MI, DISP, CG. p: probabilidad; NA: No Aplica; <sup>a</sup> Prueba de X<sup>2</sup> para la comparación de proporciones.

**Tabla 9d.** Prevalencia de factores de riesgo asociados al desarrollo de lesiones preneoplásicas gástricas en la población de estudio (Tipo de piso y número de personas en la casa).

| VARIABLE                             | CONTROL     |             | CASOS       |             |             |             |                    | Valor P            | CASOS AGRUPADOS n (%) | Valor P |
|--------------------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|--------------------|--------------------|-----------------------|---------|
|                                      | GCNA n (%)  | GCA n (%)   | MI n (%)    | DISP n (%)  | CG n (%)    | CG n (%)    |                    |                    |                       |         |
| <b>Total</b>                         | 74 (100)    | 27 (100)    | 66 (100)    | 29 (100)    | 62 (100)    | 184 (100)   | NA                 | NA                 |                       |         |
| <b>CONDICIONES DE VIVIENDA</b>       |             |             |             |             |             |             |                    |                    |                       |         |
| <b>Tipo de Piso</b>                  |             |             |             |             |             |             |                    |                    |                       |         |
| Tierra                               | 12 (16,2)   | 6 (22,2)    | 11 (16,7)   | 8 (27,6)    | 22 (35,5)   | 47 (25,5)   |                    |                    |                       |         |
| Cemento                              | 27 (36,5)   | 5 (18,5)    | 23 (34,8)   | 11 (37,9)   | 24 (38,7)   | 63 (34,2)   |                    |                    |                       |         |
| Baldosa /Granito                     | 33 (44,6)   | 15 (55,6)   | 31 (47,0)   | 10 (34,5)   | 12 (19,4)   | 68 (37,0)   |                    |                    |                       |         |
| Otro                                 | 2 (2,7)     | 1 (3,7)     | 1 (1,5)     | 0 (0)       | 4 (6,5)     | 6 (3,3)     | 0,404 <sup>a</sup> |                    |                       |         |
| <b>Número de Personas en la Casa</b> |             |             |             |             |             |             |                    |                    |                       |         |
| Media ± DS                           | 4,34 ± 2,02 | 4,33 ± 2,79 | 4,50 ± 1,97 | 4,31 ± 2,12 | 4,81 ± 2,42 | 4,55 ± 2,27 | 0,744 <sup>b</sup> | 0,487 <sup>b</sup> |                       |         |
| 1-2 persona                          | 10 (13,5)   | 8 (29,6)    | 6 (9,1)     | 7 (24,1)    | 9 (14,5)    | 30 (16,3)   |                    |                    |                       |         |
| 3-4 personas                         | 32 (43,2)   | 9 (33,3)    | 34 (51,5)   | 10 (34,5)   | 23 (37,1)   | 76 (41,3)   |                    |                    |                       |         |
| ≥5 personas                          | 32 (43,2)   | 10 (37,0)   | 26 (39,4)   | 12 (41,4)   | 30 (48,4)   | 78 (42,4)   | 0,239 <sup>a</sup> | 0,852 <sup>a</sup> |                       |         |

GCNA: Gastritis Crónica No Atrófica; GCA: Gastritis Crónica Atrófica; MI: Metaplasia Intestinal; DISP: Displasia; CA: Cáncer Gástrico; Casos agrupados: GCA, MI, DISP, CG. p: probabilidad; NA: No Aplica; DS: Desviación Estándar; <sup>a</sup>Prueba de X<sup>2</sup> para la comparación de proporciones; <sup>b</sup> Prueba de ANOVA para la comparación de medias.

**Tabla 9e.** Prevalencia de factores de riesgo asociados al desarrollo de lesiones preneoplásicas gástricas en la población de estudio (Fuente y tratamiento de agua y excreta).

| VARIABLE                                | CONTROL    |           | CASOS     |            |           |    | Valor p    | CASOS AGRUPADOS n (%) | Valor p |
|---|------------|-----------|-----------|------------|-----------|----|------------|-----------------------|---------|
|   | GCNA n (%) | GCA n (%) | MI n (%)  | DISP n (%) | CG n (%)  |    |            |                       |         |
| <b>Total</b>                            | 74 (100)   | 27 (100)  | 66 (100)  | 29 (100)   | 62 (100)  | NA | 184 (100)  | NA                    |         |
| <b>Fuente de Agua</b>                   |            |           |           |            |           |    |            |                       |         |
| Acueducto                               | 67 (90,5)  | 23 (85,2) | 58 (87,9) | 25 (86,2)  | 51 (82,3) |    | 157 (85,3) |                       |         |
| Pozo/aljibe                             | 4 (5,4)    | 1 (3,7)   | 4 (6,1)   | 2 (6,9)    | 2 (3,2)   |    | 9 (4,9)    |                       |         |
| Rio/Manantial                           | 3 (4,1)    | 3 (11,1)  | 4 (6,1)   | 2 (6,9)    | 9 (14,5)  |    | 18 (9,8)   | 0,313 <sup>a</sup>    |         |
| <b>Tratamiento de Agua para Consumo</b> |            |           |           |            |           |    |            |                       |         |
| Ninguno                                 | 31 (41,9)  | 12 (44,4) | 32 (48,5) | 10 (34,5)  | 28 (45,2) |    | 82 (44,6)  |                       |         |
| Filtrado o Hervido                      | 43 (58,1)  | 15 (55,6) | 34 (51,5) | 19 (65,5)  | 34 (54,8) |    | 102 (55,4) | 0,695 <sup>a</sup>    |         |
| <b>Excretas</b>                         |            |           |           |            |           |    |            |                       |         |
| Sanitario                               | 63 (85,1)  | 23 (85,2) | 57 (86,4) | 26 (89,7)  | 52 (83,9) |    | 158 (85,9) |                       |         |
| Letrina                                 | 8 (10,8)   | 1 (3,7)   | 8 (12,1)  | 2 (6,9)    | 7 (11,3)  |    | 18 (9,8)   |                       |         |
| Campo Abierto                           | 3 (4,1)    | 3 (11,1)  | 1 (1,5)   | 1 (3,4)    | 3 (4,3)   |    | 8 (4,3)    | 0,966 <sup>a</sup>    |         |

GCNA: Gastritis Crónica No Atrófica; GCA: Gastritis Crónica Atrófica; MI: Metaplasia Intestinal; DISP: Displasia; CA: Cáncer Gástrico; Casos agrupados: GCA, MI, DISP, CG. p: probabilidad; NA: No Aplica; <sup>a</sup> Prueba de ANOVA para la comparaciones de medias.

**Tabla 9f.** Prevalencia de factores de riesgo asociados al desarrollo de lesiones preneoplásicas gástricas en la población de estudio (Combustible/cocinan y antecedentes familiares).

| VARIABLE                           | CONTROL    |          | CASOS     |           |            |           | Valor P | CASOS AGRUPADOS n (%) | Valor P            |
|------------------------------------|------------|----------|-----------|-----------|------------|-----------|---------|-----------------------|--------------------|
|                                    | GCNA n (%) | 74 (100) | GCA n (%) | MI n (%)  | DISP n (%) | CG n (%)  |         |                       |                    |
| <b>Total</b>                       |            |          | 27 (100)  | 66 (100)  | 29 (100)   | 62 (100)  |         | 184 (100)             | NA                 |
| <b>Combustible con que cocinan</b> |            |          |           |           |            |           |         |                       |                    |
| Leña                               | 32 (26,2)  |          | 8 (25,8)  | 31 (30,4) | 19 (59,4)  | 55 (84,6) |         | 113 (49,1)            |                    |
| Gas                                | 83 (68,0)  |          | 21 (67,7) | 70 (68,6) | 12 (37,5)  | 8 (12,3)  |         | 111 (48,3)            |                    |
| Energía                            | 7 (5,7)    |          | 2 (6,5)   | 1 (1,0)   | 1 (3,1)    | 2 (3,1)   |         | 6 (2,6)               | 0,001 <sup>a</sup> |
| <b>ANTECEDENTES FAMILIARES</b>     |            |          |           |           |            |           |         |                       |                    |
| Si Antecedentes                    | 43 (58,1)  |          | 16 (59,3) | 38 (57,6) | 17 (58,6)  | 16 (25,8) |         | 87 (47,3)             |                    |
| No Antecedentes                    | 29 (39,2)  |          | 10 (37,0) | 20 (30,3) | 11 (37,9)  | 46 (74,2) |         | 87 (47,3)             |                    |
| No sabe                            | 2 (2,7)    |          | 1 (3,7)   | 8 (12,1)  | 1 (3,4)    | 0 (0)     |         | 10 (5,4)              | 0,241 <sup>a</sup> |

GCNA: Gastritis Crónica No Atrofica; GCA: Gastritis Crónica Atrofica; MI: Metaplasia Intestinal; DISP: Displasia; CA: Cáncer Gástrico; Casos agrupados: GCA, MI, DISP, CG. p: probabilidad; NA: No Aplica; <sup>a</sup> Prueba de X<sup>2</sup> para la comparación de proporciones.

### 5.3 SNPs: MIF-173 G/C, TNF $\alpha$ -308 G/A y TNF $\alpha$ -238 G/A EN PACIENTES CON LESIONES PRENEOPLÁSICAS GÁSTRICAS

#### 5.3.1 Polimorfismo MIF-173 G/C (rs755622)

El polimorfismo MIF-173 G/C, se ha encontrado en algunos estudios relacionados con un mayor riesgo de susceptibilidad a lesiones gástricas precancerosas atribuibles a la presencia del alelo MIF-173 C (Conroy, Mawhinney et al. 2010). Estudios realizados para determinar los niveles del factor inhibidor de la migración de macrófagos en sueros de individuos que poseen el alelo C, obtienen una cantidad significativamente más alta de MIF que individuos que no presentan el alelo mutado; en estudios posteriores se comprueba que este SNP se encuentra en la región promotora y que estimula el factor de transcripción AP-4, el cual regula la expresión del gen, lo que lleva al incremento de la producción de la proteína (Donn, Alourfi et al. 2002; Yun, Xu et al. 2009). Por este motivo y con el conocimiento previo de la importancia de esta citoquina como moduladora de la respuesta inmune y su papel en la cascada de carcinogénesis gástrica, se tipificaron los pacientes tanto casos como controles, encontrando una frecuencia para los genotipos y alelos en toda la población estudiada como se muestra en la Tabla 10.

**Tabla 10.** Frecuencia de los genotipos para el polimorfismo MIF 173 G/C en la población de estudio.

| POLIMORFISMO                   | GENOTIPO  | n (%)      | ALELOS   | n (%)      |
|--------------------------------|-----------|------------|----------|------------|
| <b>MIF-173 G/C</b><br>rs755622 | <b>GG</b> | 143 (55,4) | <b>G</b> | 392 (76,0) |
|                                | <b>GC</b> | 106 (41,1) |          |            |
|                                | <b>CC</b> | 9 (3,5)    | <b>C</b> | 124 (24,0) |

Los genotipos de MIF-173 en las 258 personas que incluyen el estudio, se distribuyen en un 55,4% para el homocigoto silvestre GG, el 41,1% para el heterocigoto GC y el 3,5% es homocigoto mutado CC, (G= 76,0% y C= 24,0%).

Estas frecuencias de distribución del polimorfismo en la población, coinciden con lo reportado por la base de datos dbSNP del sistema NCBI's Entrez, previamente referenciado en el marco teórico (Tabla 7).

Las proporciones de los genotipos varían al asociarlos con cada una de las diferentes lesiones como se muestran en la Tabla 11; tendiendo a aumentar la frecuencia del alelo mutado a medida que avanza el desarrollo de la lesión. Se observa que la proporción del genotipo CC se incrementa de un 3.7% en CGA a 6,5% en CG y no se encontró individuos con este genotipo en el grupo control.

**Tabla 11.** Frecuencia de los genotipos para el polimorfismo MIF-173 G/C en pacientes con lesiones preneoplásicas gástricas en la población de estudio y H.W.

|                                | CONTROL    | CASOS      |           |            |           | CASOS AGRUPADOS n(%) |            |
|--------------------------------|------------|------------|-----------|------------|-----------|----------------------|------------|
|                                | GCNA n (%) | GCA n (%)  | MI n (%)  | DISP n (%) | CG n (%)  |                      |            |
| <b>Total</b>                   | 74 (100)   | 27 (100)   | 66 (100)  | 29 (100)   | 62 (100)  | 184 (100)            |            |
| <b>LESIONES PRENEOPLÁSICAS</b> | GG         | 47 (63,5)  | 17 (63,0) | 46 (69,7)  | 12 (41,4) | 21 (33,9)            | 96 (52,2)  |
|                                | GC         | 27 (36,5)  | 9 (33,3)  | 18 (27,3)  | 15 (51,7) | 37 (59,7)            | 79 (42,9)  |
|                                | CC         | 0 (0)      | 1 (3,7)   | 2 (3,0)    | 2 (6,9)   | 4 (6,5)              | 9 (4,9)    |
| <b>LESIONES CÁNCER</b>         | G          | 121 (82,0) | 43 (80,0) | 110 (83,0) | 39 (67,0) | 79 (64,0)            | 271 (74,0) |
|                                | C          | 27 (18,0)  | 11 (20,0) | 22 (17,0)  | 19 (33,0) | 45 (36,0)            | 97 (26,0)  |
| <b>H.W. (p)</b>                | 0,055      | 0.886      | 0,882     | 0,348      | 0,022     | 0,151                |            |

GCNA: gastritis crónica no atrófica; GCA: gastritis crónica atrófica; MI: metaplasia intestinal; DISP: displasia; CG: cáncer gástrico; Lesiones Gástricas: GCA, MI, DISP, CG. p: probabilidad para la comparación de los alelos en equilibrio de Hardy-Weinberg

Para tales frecuencias genotípicas se realizó el test de equilibrio de Hardy-Weinberg (Tabla 11), presentándose una tendencia al desequilibrio en el sentido del aumento del genotipo mutado, encontrando que el grupo de pacientes con cáncer no estaba en equilibrio. El 33,9% de estos pacientes presentan el genotipo GG, el 59,7% el genotipo GC y el 6,5% el mutado CC, con  $p=0,022$  ( $p < 0,05$ ). Es

importante aclarar que la alteración del equilibrio de Hardy Weinberg, no se debe a la variación de los genotipos en los grupos de estudios, si no, son el resultado de la presión de selección, donde los individuos más susceptibles terminan desarrollando la patología y por ende se incrementa el número de sujetos con el genotipo que confiere dicha predisposición genética. Vale la pena aclarar que el valor de  $p=0,055$  que presenta el grupo control, es un artefacto del tamaño muestral del grupo, más no una tendencia al desequilibrio.

Partiendo del hecho de que el genotipo mutado MIF-173 C/C, se encuentra asociado al desarrollo de lesiones gástricas que eventualmente desencadenan en CG; se realizó la estimación de riesgo para cada una de las lesiones y para el grupo de casos agrupados. En la tabla 12, se muestra que los pacientes que presentan al menos un alelo mutado (MIF-173 alelo C), tiene 2,47 veces más riesgo de desarrollar displasia (OR: 2,47 95% IC=1,0-5,9) y 3,40 veces más riesgo a padecer cáncer gástrico (OR: 3,40 95% IC=1,7-6,9), que aquellos que no portan el alelo. Estos datos se pueden relacionar con los reportados en otros estudios realizados con este polimorfismo, como el realizado por Zhong-Wu Li en el 2010, donde relacionan el genotipo MIF-173 C/C con el riesgo a desarrollar GCA y MI, cuyas estimaciones de riesgo permiten argumentar la validez de los resultados del presente estudio.

**Tabla 12.** Polimorfismo MIF-173 G/C y su asociación con el riesgo de desarrollar lesiones preneoplásicas gástricas en la población de estudio.

| GENOTIPO | GCA (n=27)<br>OR (95%CI) | MI (n=66)<br>OR (95%CI) | DISP (n=29)<br>OR (95%CI) | CG (n=62)<br>OR (95%CI) | CASOS<br>AGRUPADOS<br>OR (95%CI) |
|----------|--------------------------|-------------------------|---------------------------|-------------------------|----------------------------------|
| GG       | 1.00                     | 1.00                    | 1.00                      | 1.00                    | 1.00                             |
| GC       | 0,92 (0,4 - 2,3)         | 0,68 (0,3 - 1,4)        | 2,18 (0,9 - 5,3)          | 3,07 (1,5 - 6,3)        | 1,43 (0,8 - 2,5)                 |
| CC       | NA                       | NA                      | NA                        | NA                      | NA                               |
| CC + CG  | 1,02 (0,4 - 2,5)         | 0,76 (0,4 - 1,5)        | 2,47 (1,0 - 5,9)          | 3,40 (1,7 - 6,9)        | 1,60 (0,9 - 2,7)                 |

GCNA: gastritis crónica no atrófica; GCA: gastritis crónica atrófica; MI: metaplasia intestinal; DISP: displasia; CG: cáncer gástrico; Lesiones Gástricas: GCA, MI, DISP, CG; NA: No Aplica.

### 5.3.2 Polimorfismos TNF $\alpha$ -308 G/A (rs1800629) y TNF $\alpha$ -238 G/A (rs361525)

El gen TNF $\alpha$ , codifica una de las citocinas más relacionada con el desarrollo de lesiones gástricas y su evolución a cáncer, sus características y el papel que desempeña en la respuesta inflamatoria desencadenada por *H. pylori* en la carcinogénesis gástrica, es de relevancia para comprender dicha patología; en hallazgos previos se ha descrito que el polimorfismo TNF $\alpha$ -308 G/A, se encuentra al igual que MIF-173 G/C relacionado con el aumento de la producción de la proteína, a diferencia del polimorfismo TNF $\alpha$ -238 G/A, cuya presencia disminuye la producción de la misma, desempeñando un rol como factor protector, debido a la razón que al disminuir la producción del factor se disminuye consigo, su papel en la respuesta inmunológica y la producción de sustancias que favorezcan el estrés oxidativo que causa el daño de las células (Jen-Eing, Jung-Fa et al. 2007). Basado en esta evidencia científica, se genotipificó los SNPs TNF $\alpha$ -308 G/A y TNF $\alpha$ -238 G/A, para comprobar la importancia de estos SNPs como marcadores de susceptibilidad genéticos en lesiones preneoplásicas gástricas de la población de estudio.

En la población de estudio, los genotipos de TNF $\alpha$ -308 G/A (Tabla 13), se distribuyen en un 64,3% para el homocigoto silvestre GG, el 32,9% para el heterocigoto GA y el 2,9% son homocigoto mutado AA, (G= 81,0% y A= 19,0%). Estas frecuencias de distribución del polimorfismo en la población corresponden a lo reportado por la base de datos dbSNP del sistema NCBI's Entrez, previamente referenciado en el marco teórico (Tabla 4).

**Tabla 13.** Frecuencia del Genotipo G/A del polimorfismo TNF $\alpha$ -308 en la población de estudio.

| POLIMORFISMO                       | GENOTIPO | n (%)      | ALELOS | n (%)      |
|------------------------------------|----------|------------|--------|------------|
| TNF $\alpha$ -308 G/A<br>rs1800629 | GG       | 166 (64,3) | G      | 417 (81,0) |
|                                    | GA       | 85 (32,9)  |        |            |
|                                    | AA       | 7 (2,9)    | A      | 99 (19,0)  |



Al analizar los genotipos acorde con el tipo de lesión, las proporciones varían como se muestran en la Tabla 14; tendiendo a aumentar la frecuencia del alelo mutado a medida que avanza el desarrollo de las lesiones, como se puede observar con el incremento de la proporción del genotipo AA del grupo control (1,4%) al de CG 6,5%. Para la distribución de las frecuencias genotípicas del polimorfismo TNF $\alpha$ -308 G/A en las diferentes lesiones, se realizó el test de equilibrio de Hardy-Weinberg (Tabla 14), presentándose que todos los grupos estaban en equilibrio; lo cual nos permite inferir que este polimorfismo no confiere susceptibilidad genética en la población estudiada.

**Tabla 14.** Frecuencia de los genotipos para el polimorfismo TNF $\alpha$ -308 G/A en pacientes con lesiones preneoplásicas gástricas en la población de estudio y H.W.

|                 | CONTROL    | CASOS      |           |            |           | CASOS AGRUPADOS n(%) |            |
|-----------------|------------|------------|-----------|------------|-----------|----------------------|------------|
|                 | GCNA n (%) | GCA n (%)  | MI n (%)  | DISP n (%) | CG n (%)  |                      |            |
| <b>Total</b>    | 74 (100)   | 27 (100)   | 66 (100)  | 29 (100)   | 62 (100)  | 184 (100)            |            |
| <b>GENOTIPO</b> | GG         | 64 (86,5)  | 17 (63,0) | 43 (65,2)  | 15 (51,7) | 27 (43,5)            | 102 (55,4) |
|                 | GA         | 9 (12,2)   | 10 (37,0) | 22 (33,3)  | 13 (44,8) | 31 (50,0)            | 76 (41,3)  |
|                 | AA         | 1 (1,4)    | 0 (0)     | 1 (1,5)    | 1 (3,4)   | 4 (6,5)              | 6 (3,3)    |
| <b>ALELO</b>    | G          | 137 (93,0) | 44 (81,0) | 108 (82,0) | 43 (74,0) | 85 (69,0)            | 280 (76,0) |
|                 | A          | 11 (7,0)   | 10 (19,0) | 24 (18,0)  | 15 (26,0) | 39 (31,0)            | 88 (24,0)  |
| <b>H.W. (p)</b> | 0,318      | 0,238      | 0,328     | 0,363      | 0,209     | 0,066                |            |

GCNA: gastritis crónica no atrófica; GCA: gastritis crónica atrófica; MI: metaplasia intestinal; DISP: displasia; CG: cáncer gástrico; Casos agrupados: GCA, MI, DISP, CG.  
p: probabilidad para la comparación de los alelos en equilibrio de H. W.

A pesar de los resultados obtenidos en el equilibrio de H.W, al realizar la estimación de riesgo (Tabla 15); se encontró que los pacientes que presentan al menos un alelo mutado (TNF $\alpha$ -308 alelo A), tiene 2,3 veces más riesgo de desarrollar metaplasia (OR: 2,3 95% IC=1,1-4,8) y 3,5 veces más riesgo a padecer cáncer gástrico (OR: 3,5 95% IC=1,7-7,0). La ausencia de asociación de riesgo

para pacientes con GCA y DISP, puede deberse al reducido tamaño muestral en estos grupos. Es de aclarar, que no fue posible la estimación de riesgo para el genotipo CC en ninguna de las lesiones, debido a que en los controles no se presento este genotipo lo que impidió estimar el OR.

**Tabla 15.** Polimorfismo TNF $\alpha$ -308 G/A y su asociación con el riesgo de desarrollar lesiones preneoplásicas gástricas en la población de estudio.

| GENOTIPO | GCA (n=27)<br>OR (95%CI) | MI (n=66)<br>OR (95%CI) | DISP (n=29)<br>OR (95%CI) | CG (n=62)<br>OR (95%CI) | CASOS AGRUPADOS<br>OR (95%CI) |
|----------|--------------------------|-------------------------|---------------------------|-------------------------|-------------------------------|
| GG       | 1.00                     | 1.00                    | 1.00                      | 1.00                    | 1.00                          |
| GA       | 1,11 (0,4 - 2,7)         | 2,44 (1,1 - 5,3)        | 5,44 (0,6 - 3,4)          | 3,44 (1,6 - 7,2)        | 2,44 (4,2 - 16,8)             |
| AA       | NA                       | 1,0 (0,06 - 15,9)       | 1,0 (0,6 - 15,9)          | 4,0 (0,4 - 35,8)        | 6,0 (0,7 - 49,8)              |
| AA + AG  | 1,0 (0,4 - 2,4)          | 2,3 (1,1 - 4,8)         | 1,4 (0,6 - 3,1)           | 3,5 (1,7 - 7,0)         | 3,1 (4,2 - 15,8)              |

GCNA: gastritis crónica no atrófica; GCA: gastritis crónica atrófica; MI: metaplasia intestinal; DISP: displasia; CG: cáncer gástrico; Casos agrupados: GCA, MI, DISP, CG; NA: No Aplica.

Por otra parte, las frecuencias de los genotipos para el TNF $\alpha$ -238 G/A relacionado en la Tabla 16, se distribuyen en un 79,8% para el homocigoto silvestre GG, el 18,2% para el heterocigoto GA y el 1,9% son homocigoto mutado AA, (G= 89,0% y A= 11,0%). Estas frecuencias de distribución del polimorfismo en la población corresponden a lo reportado por la base de datos dbSNP, previamente referenciado en el marco teórico (Tabla 5).

**Tabla 16.** Frecuencia de los genotipos para el polimorfismo TNF $\alpha$ -238 G/A en la población de estudio.

| POLIMORFISMO                      | GENOTIPO | n (%)      | ALELOS | n (%)      |
|-----------------------------------|----------|------------|--------|------------|
| TNF $\alpha$ -238 G/A<br>rs361525 | GG       | 206 (79,8) | G      | 459 (89,0) |
|                                   | GA       | 47 (18,2)  |        |            |
|                                   | AA       | 5 (1,9)    | A      | 57 (11,0)  |

Al asociar los genotipos acorde con cada tipo de lesión, sus proporciones varían como se muestran en la Tabla 17; tendiendo a disminuir la frecuencia del alelo mutado a medida que avanza las lesiones, como se puede observar con la presencia del genotipo AA en el 4,1% de la población control contrastando con el 3,0% en MI y su ausencia en las demás lesiones. Para la distribución de las frecuencias genotípicas del polimorfismo TNF $\alpha$ -238 G/A en las diferentes lesiones, se realizó el test de equilibrio de Hardy-Weinberg (Tabla 17), presentándose que todos los grupos estaban el equilibrio.

**Tabla 17.** Frecuencia de los genotipos para el polimorfismo TNF $\alpha$ -238 G/A en pacientes con lesiones preneoplásicas gástricas en la población de estudio y H.W.

|                     | CONTROL    | CASOS      |           |            |           | CASOS AGRUPADOS n(%) |            |
|---------------------|------------|------------|-----------|------------|-----------|----------------------|------------|
|                     | GCNA n (%) | GCA n (%)  | MI n (%)  | DISP n (%) | CG n (%)  |                      |            |
| <b>Total</b>        | 74 (100)   | 27 (100)   | 66 (100)  | 29 (100)   | 62 (100)  | 184 (100)            |            |
| <b>POLIMORFISMO</b> | GG         | 51 (68,9)  | 19 (70,4) | 56 (84,8)  | 24 (82,8) | 56 (90,3)            | 155 (84,2) |
|                     | GA         | 20 (27,0)  | 8 (29,6)  | 8 (12,1)   | 5 (17,2)  | 6 (9,7)              | 27 (14,7)  |
|                     | AA         | 3 (4,1)    | 0 (0)     | 2 (3,0)    | 0 (0)     | 0 (0)                | 2 (1,1)    |
| <b>ALELO</b>        | G          | 122 (82,0) | 46 (85,0) | 120 (91,0) | 53 (91,0) | 118 (95,0)           | 337 (92,0) |
|                     | A          | 26 (18,0)  | 8 (15,0)  | 12 (9,0)   | 5 (9,0)   | 6 (5,0)              | 31 (8,0)   |
| <b>H.W. (p)</b>     | 0,565      | 0,366      | 0,030     | 0,611      | 0,689     | 0,507                |            |

GCNA: gastritis crónica no atrófica; GCA: gastritis crónica atrófica; MI: metaplasia intestinal; DISP: displasia; CG: cáncer gástrico; Casos agrupados: GCA, MI, DISP, CG.

p: probabilidad para la comparación de los alelos en equilibrio de H. W.

El polimorfismo TNF $\alpha$ -238 G/A, no mostro asociación de riesgo para el desarrollo de lesiones precancerosas gástricas, por el contrario se mostro protector en todas las lesiones como se puede observar en los OR de la Tabla 18, (OR<1, 95% IC= 0,00-0,99). Resultado que lleva a confirmar que bajo las condiciones de este estudio el polimorfismo TNF $\alpha$ -238 G/A, es un factor protector para el desarrollo de





lesiones gástricas precancerosas, observaciones que son soportadas por varios estudios a nivel internacional (Lu, Pan et al. 2005; Mossböck, Renner et al. 2009).

**Tabla 18.** Polimorfismo TNF $\alpha$ -238 G/A y su asociación con el riesgo de desarrollar lesiones preneoplásicas gástricas en la población de estudio.


| GENOTIPO | GCA (n=27)<br>OR (95%CI) | MI (n=66)<br>OR (95%CI) | DISP (n=29)<br>OR (95%CI) | CG (n=62)<br>OR (95%CI) | CASOS<br>AGRUPADOS<br>OR (95%CI) |
|----------|--------------------------|-------------------------|---------------------------|-------------------------|----------------------------------|
| GG       | 1.00                     | 1.00                    | 1.00                      | 1.00                    | 1.00                             |
| GA       | 0,4 (0,2 - 0,9)          | 0,4 (0,1 - 0,9)         | 0,25 (0,1 - 0,6)          | 0,3 (0,1 - 0,7)         | 0,35 (0,75 - 2,4)                |
| AA       | NA                       | 0,66 (0,1 - 3,9)        | NA                        | NA                      | 0,32 (0,06 - 1,6)                |
| AA + AG  | 0,35 (0,1 - 0,7)         | 0,44 (0,2 - 0,9)        | 0,22 (0,1 - 0,5)          | 0,26 (0,1 - 0,6)        | 0,42 (0,2 - 0,9)                 |


GCNA: gastritis crónica no atrófica; GCA: gastritis crónica atrófica; MI: metaplasia intestinal; DISP: displasia; CG: cáncer gástrico; Casos agrupados: GCA, MI, DISP, CG; NA: No Aplica.


## 6. CONCLUSIONES

-  Esta investigación confirma los reportes realizados por otros estudios epidemiológicos, donde las características sociodemográficas propias de las poblaciones de bajos recursos, de áreas lejanas y con difícil asequibilidad al sistema de salud, están en mayor riesgo a desarrollar lesiones gástricas que eventualmente conduzcan al cáncer.
  
-  La estandarización de las técnicas de PCR y RFLP para la genotipificación de los polimorfismos TNF $\alpha$ -308 G/A, TNF $\alpha$ -238 G/A y MIF-173 G/C en la población del Cauca fue exitosa, permitiendo obtener los diferentes genotipos de manera confiable y válida acorde con los estándares internacionales.
  
-  La frecuencia de los polimorfismos TNF $\alpha$ -308 G/A, TNF $\alpha$ -238 G/A y MIF-173 G/C determinados en la población de estudio, están en concordancia con lo reportado a nivel mundial, indicando que no hay diferencias genéticas en la población de estudio.
  
-  Los polimorfismos MIF-173 G/C y TNF $\alpha$ -308 G/A en la población de estudio, confieren riesgo a desarrollar lesiones precancerosas y cáncer gástrico, con la presencia de al menos un alelo mutado para el polimorfismo MIF-173 alelo C o un alelo mutado para el polimorfismo TNF $\alpha$ -308 alelo A. El polimorfismo TNF $\alpha$ -238 G/A, se comportó como un factor protector para el desarrollo de lesiones preneoplásicas gástricas en la población caucana en estudio.

## 7. RECOMENDACIONES

 Dada las evidencias reportadas para la población del Cauca, es conveniente recomendar la implementación de programas para la promoción de la salud y prevención de riesgo a desarrollar lesiones gástricas, que eventualmente desencadenen en CA. Programas que tengan como objetivo intervenir en la salud de los individuos y colectividades más susceptibles a padecer esta patología, promoviendo la adopción de estilos de vida saludables, con estrategias pertinentes para el nivel socioeconómico bajo en el que se encuentra su población y el precario sistema de salud con el que cuentan.

 Teniendo en cuenta la evidencia científica y los resultados de este estudio, es importante la inclusión de los protocolos aquí estandarizados en los sistemas de tamizaje para cáncer gástrico en la población, lo que llevaría a contar con un mayor número de herramientas que permitan un diagnóstico oportuno y adecuado, que contribuya a la disminución de esta problemática en beneficio de la salud pública de nuestra región.

 Es importante continuar con esta investigación en la población cohorte cautiva, para poder consolidar las estimaciones obtenidas en la población. También se hace necesario la realización de investigaciones similares con otros genes que están implicados en la respuesta inflamatoria ante la infección con *H. pylori*, como las interleuquinas: IL-1 $\alpha$ , IL-1beta, IL-4, IL6, IL-8, IL-10, IL-12 y IL-17, para llegar a una estimación de riesgo mucho más completa asociada a la respuesta inmunológica.

## 8. BIBLIOGRAFÍA

- Adrada, J., F. Calambás, et al. (2008). "Características sociodemográficas y clínicas en una población con cáncer gástrico en el Cauca, Colombia." *Rev Col Gastroenterol* 4.
- Aeberli, D., M. Leech, et al. (2006). "Macrophage migration inhibitory factor and glucocorticoid sensitivity." *Rheumatology* 45(8): 937.
- Alpizar-Alpizar, W., C. Une, et al. (2009). "La inflamación y su papel en el desarrollo del cáncer gástrico." *Acta méd. costarric* 51(2): 76-81.
- Andreas Ziegler, I. R. K., Friedrich Pahlke (2010). *A Statistical Approach to Genetic Epidemiology: Concepts and Applications*.
- Anselmi, S., V. Castillo, et al. (2008). "Helicobacter pylori: a way to cancer." *VITAE Academia Biomédica Digital*(32).
- Balkwill, F. and A. Mantovani (2001). "Inflammation and cancer: back to Virchow?" *The Lancet* 357(9255): 539-545.
- Bucala, R. and S. Donnelly (2007). "Macrophage migration inhibitory factor: a probable link between inflammation and cancer." *Immunity* 26(3): 281-285.
- Calandra, T., C. Froidevaux, et al. (2003). "Macrophage migration inhibitory factor and host innate immune defenses against bacterial sepsis." *The Journal of Infectious Diseases* 187: 385-390.
- Calandra, T. and T. Roger (2003). "Macrophage migration inhibitory factor: a regulator of innate immunity." *Nature reviews immunology* 3(10): 791-800.
- Compare, D., A. Rocco, et al. (2010). "Risk factors in gastric cancer." *European review for medical and pharmacological sciences* 14(4): 302.
- Conroy, H., L. Mawhinney, et al. (2010). "Inflammation and cancer: macrophage migration inhibitory factor (MIF)--the potential missing link." *QJM*.
- Correa, P. and M. Piazuolo (2008). "Natural history of Helicobacter pylori infection." *Digestive and liver disease* 40(7): 490-496.
- Correa, P., M. Piazuolo, et al. (2004). "The future of gastric cancer prevention." *Gastric Cancer* 7(1): 9-16.

- Correa, P., M. Piazuelo, et al. (2010). "Pathology of Gastric Intestinal Metaplasia: Clinical Implications " *The American Journal of Gastroenterology* 105(3): 493-498.
- Cotran, R. y. (2008). *Patología Funcional y Estructural*. Barcelona (España). Elsevier Saunders.
- Czinn, S. (2005). "Helicobacter pylori infection: detection, investigation, and management." *The Journal of pediatrics* 146(3): S21-S26.
- Dayer, R. (2006). "Research project: Dissecting the pleiotropic functions of tumor necrosis factor (TNF) and other TNF family members in the pathogenesis of colitis." *Institute of Pathology, University of Bern*.
- Donn, R., Z. Alourfi, et al. (2002). "Mutation screening of the macrophage migration inhibitory factor gene: positive association of a functional polymorphism of macrophage migration inhibitory factor with juvenile idiopathic arthritis." *Arthritis & Rheumatism* 46(9): 2402-2409.
- Echarri, A. (2009). "Infección por Helicobacter pylori y cáncer gástrico."
- El-Omar, E., C. Rabkin, et al. (2003). "Increased risk of noncardia gastric cancer associated with proinflammatory cytokine gene polymorphisms\* 1." *Gastroenterology* 124(5): 1193-1201.
- Erciyas, K., S. Pehlivan, et al. (2010). "Association between TNF-alpha, TGF-beta1, IL-10, IL-6 and IFN-gamma gene polymorphisms and generalized aggressive periodontitis." *Clinical and investigative medicine. Médecine clinique et experimentale* 33(2): E85.
- Ferrone, C. and G. Dranoff (2010). "Dual roles for immunity in gastrointestinal cancers." *Journal of Clinical Oncology* 28(26): 4045.
- Ford, A. and A. Axon (2010). "Epidemiology of Helicobacter pylori infection and Public Health Implications." *Helicobacter* 15: 1-6.
- Fritz, E. (2010). "Helicobacter pylori and gastric cancer" *Continuing Medical Education* 27(5).
- Fuentes-Pananá, E., M. Camorlinga-Ponce, et al. (2009). "Infection, inflammation and gastric cancer." *Salud Pública de México* 51: 427-433.
- Go, M. (2002). "Natural history and epidemiology of Helicobacter pylori infection." *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* 16: 3-15.



- González, C., G. Pera, et al. (2006). "Fruit and vegetable intake and the risk of stomach and oesophagus adenocarcinoma in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC–EURGAST)." *International Journal of Cancer* 118(10): 2559-2566.
- Goodwin, P., J. Meyerhardt, et al. (2010). "Host Factors and Cancer Outcome." *Journal of Clinical Oncology* 28(26): 4019.
- Hanahan, D. and R. Weinberg (2000). "The hallmarks of cancer." *Cell* 100(1): 57-70.
- Harry Hua-Xia, S.-K. L., Xiao Ru Huang, Wai-Man Wong, Suet-Yi Leung, Siu Tan Yuen, Hui-Yao Lan and Benjamin Chun-Yu Wong (2004). "Helicobacter pylori Infection Is Associated with Increased Expression of Macrophage Inhibitory Factor by Epithelial Cells, T cells and Macrophages in Gastric Mucosa." *The Journal of Infectious Diseases* 190(2): 293-302.
- Hu, Z., J. Ajani, et al. (2007). "Molecular Epidemiology of Gastric Cancer: Current Status and Future Prospects." *Gastrointestinal Cancer Research: GCR* 1(1): 12.
- Hudson, J., M. Shoaibi, et al. (1999). "A proinflammatory cytokine inhibits p53 tumor suppressor activity." *Journal of Experimental Medicine* 190(10): 1375.
- Izzotti, A., P. Durando, et al. (2009). "Interaction between Helicobacter pylori, diet, and genetic polymorphisms as related to non-cancer diseases." *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 667(1-2): 142-157.
- Jen-Eing, J., T. Jung-Fa, et al. (2007). "Tumor necrosis factor- 308.2 polymorphism is associated with advanced hepatic fibrosis and higher risk for hepatocellular carcinoma." *Neoplasia (New York, NY)* 9(11): 987.
- Kaijzel, E., B. Brinkman, et al. (1999). "Polymorphism within the tumor necrosis factor [alpha](TNF) promoter region in patients with ankylosing spondylitis." *Human immunology* 60(2): 140-144.
- Kanemitsu, K., K. Kawasaki, et al. (2007). "MSI is frequently recognized among gastric cancer patients with a family history of cancer." *Hepato-gastroenterology* 54(80): 2410-2414.
- Kountouras, J., E. Gavalas, et al. (2007). "Alzheimer's disease and Helicobacter pylori infection: Defective immune regulation and apoptosis as proposed common links." *Medical hypotheses* 68(2): 378-388.

- Kountouras, J., C. Zavos, et al. (2008). "New aspects of Helicobacter pylori infection involvement in gastric oncogenesis." *Journal of Surgical Research* 146(1): 149-158.
- Kudrin, A., M. Scott, et al. (2006). "Human Macrophage Migration Inhibitory Factor." *Journal of Biological Chemistry* 281(40): 29641.
- Lai, L. and J. Sung (2007). "Helicobacter pylori and benign upper digestive disease." *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology* 21(2): 261-279.
- Lauren, P. (1965). "The two histological main types of gastric carcinoma: diffuse and so-called Intestinal-type carcinoma. An attempt at a histo-clinical classification." *Acta pathologica et microbiologica Scandinavica* 64: 31.
- Li, Z., Y. Wu, et al. (2010). "Inflammatory cytokine gene polymorphisms increase the risk of atrophic gastritis and intestinal metaplasia." *World J Gastroenterol.* 16(14): 1788-1794.
- Libby, P. (2007). "Inflammatory mechanisms: the molecular basis of inflammation and disease." *Nutrition reviews* 65: S140-S146.
- Locksley, R., N. Killeen, et al. (2001). "The TNF and TNF receptor superfamilies integrating mammalian biology." *Cell* 104(4): 487-501.
- Lochhead, P. and E. El-Omar (2007). "Helicobacter pylori infection and gastric cancer." *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology* 21(2): 281-297.
- Lochhead, P. and E. El-Omar (2008). "Gastric cancer." *British medical bulletin*.
- Lu, W., K. Pan, et al. (2005). "Genetic polymorphisms of interleukin (IL)-1B, IL-1RN, IL-8, IL-10 and tumor necrosis factor {alpha} and risk of gastric cancer in a Chinese population." *Carcinogenesis* 26(3): 631.
- Machado, J., C. Figueiredo, et al. (2003). "A proinflammatory genetic profile increases the risk for chronic atrophic gastritis and gastric carcinoma\* 1." *Gastroenterology* 125(2): 364-371.
- Malfertheiner, P., J. Bornschein, et al. (2010). "Role of Helicobacter pylori infection in gastric cancer pathogenesis: A chance for prevention" *Journal of Digestive Diseases* 11(1): 2-11.

- McLoughlin, R., C. O'Morain, et al. (2005). "Eradication of *Helicobacter pylori*: recent advances in treatment." *Fundamental & clinical pharmacology* 19(4): 421-427.
- McNamara, D. and E. El-Omar (2008). "*Helicobacter pylori* infection and the pathogenesis of gastric cancer: a paradigm for host-bacterial interactions." *Digestive and liver disease* 40(7): 504-509.
- Mohar, A., C. Ley, et al. (2002). "Alta frecuencia de lesiones precursoras de cáncer gástrico asociadas a *Helicobacter pylori* y respuesta al tratamiento, en Chiapas, México." *Gac Méd Méx* 138(5): 0016-3813.
- Montealegre O, M., C. Jaramillo H, et al. (2010). "Molecular and histological detection of *Helicobacter pylori* and genotyping based on *babA2* and *iceA* in patients with benign gastric pathologies." *Revista chilena de infectología* 27: 112-118.
- Moreno, M. A. Y. y. M. R. (2008). Relación entre las concentraciones de citoquinas Factor de Necrosis Tumoral-alfa, Interleuquina 1, Interleuquina 6 (FNT-a, IL-1, IL-6) y la proteína c reactiva ultrasensible (PCR-us) en pasientes con sepsis. Facultad de Ciencias, Progama de Bacteriología. Bogota, D. C, Pontificia Universidad Javeriana.
- Mossböck, G., W. Renner, et al. (2009). "TNF-  $-308$  G > A and  $-238$  G > A polymorphisms are not major risk factors in Caucasian patients with exfoliation glaucoma." *Molecular Vision* 15: 518.
- Muñoz, N. (2009). "Cáncer gástrico y *Helicobacter pylori*: evidencia epidemiológica y perspectivas para la prevención."
- Naito, Y. and T. Yoshikawa (2002). "Molecular and cellular mechanisms involved in *Helicobacter pylori*-induced inflammation and oxidative stress." *Free radical biology & medicine* 33(3): 323.
- NCI, N. C. I. (2006). "Understanding Cancer Series: Genetic Variation (SNPs)." Retrieved [www.cancer.gov/cancertopics/understandingcancer/geneticvariation](http://www.cancer.gov/cancertopics/understandingcancer/geneticvariation), 2010.
- Ohkawara, T., J. Nishihira, et al. (2005). "Pathophysiological roles of macrophage migration inhibitory factor in gastrointestinal, hepatic, and pancreatic disorders." *Journal of gastroenterology* 40(2): 117-122.
- Padilla, H., et al. (2007). "TNF- $\alpha$  como marcador tumoral en cáncer gástrico." *Endoscopia* 19 (3): 241-248.

- Parra, T. (2009). "Reservorios y vías de transmisión de la infección por *Helicobacter pylori*."
- Pascal Renner, T. R. a. T. C. (2005). "Macrophage Migration Inhibitory Factor: Gene Polymorphisms and Suceptibility to Inflammatory Diseases." *Clinical Infectious Diseases* 41(8): 513-519.
- Peek Jr, R., C. Fiske, et al. (2010). "Role of Innate Immunity in *Helicobacter pylori*-Induced Gastric Malignancy." *Physiological Reviews* 90(3): 831.
- Pérez, J. (2009). "Evaluación de la visualización por endoscopia en la identificación de lesiones gástricas premalignas en una población colombiana con prueba de referencia histopatológica." *Atención primaria* 41(02): 85.
- Polk, D. and R. Peek (2010). "*Helicobacter pylori*: gastric cancer and beyond." *Nature Reviews Cancer* 10(6): 403-414.
- Portal-Celhay, C. and G. Perez-Perez (2006). "Immune responses to *Helicobacter pylori* colonization: mechanisms and clinical outcomes." *Clinical Science* 110: 305-314.
- R. P. Donn, E. S., W. E. R. Ollier, W. Thomson, and the British Paediatric Rheumatology Study Grup (2001). "A Novel 5'-Flanking aregion Polymorphism of Macrophage Migration Inhibitory Factor Is Associated With Systemic-Onset Juvenile Idiopathic Arthritis." *Arthritis & Rheumatism* 44(8): 1782-1785.
- Regino, W. (2009). "Cáncer gástrico en Colombia: un diagnóstico tardío que amerita el compromiso del Estado." *Gastroenterología*: 31.
- Reyes, E. J. B. a. V. E. (2008). "Macrophage Migration Inhibitory Factor and Interleukin-8 Produced by Gastric Epithelial Cells during *Helicobacter pylori* Exposure Induce Expression and Activation of the Epidermal Growth Factor Receptor " *Infection and Immunity* 76(7): 3233-3240.
- Richard M. Peek, J., Chris Fiske y Keith T. Wilson (2010). "Role of Innate Immunity in *Helicobacter pylori*-Induced Gastric Malignancy" *Physiological Reviews* 90(3): 831.
- Robinson, K., R. Argent, et al. (2007). "The inflammatory and immune response to *Helicobacter pylori* infection." *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology* 21(2): 237-259.

- Rodriguez, A., J. Alvaro, et al. (2000). "Asociacion entre Infeccion por helicobacter pylori y cancer gastrico en Colombia; Helicobacter pylori and gastric cancer in Colombia." Univ. med 41(3): 141-147.
- Rubiano, J. a. V., M (2007). Atrofia, metaplasia y cáncer gástrico: dónde está la evidencia?. rev. colomb. cir. vol. 22, no. 1, ISSN.
- Sherry ST, W. M., Kholodov M, Baker J, Phan L, Smigielski EM, Sirotkin K (2001). "dbSNP: the NCBI database of genetic variation." Nucleic Acids Research 29: 308-311.
- Sierra, A., T. Linares, et al. (2008). "Signet-ring cell adenocarcinoma of the duodenal bulb." Gastroenterología y hepatología 31(2): 107.
- Smoke, I. and I. Smoking (2004). IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, Lyon, France: IARC press.
- Soga, Y., F. Nishimura, et al. (2003). "Tumor necrosis factor-alpha gene (TNF- )-1031/- 863,- 857 single-nucleotide polymorphisms (SNPs) are associated with severe adult periodontitis in Japanese." Journal of clinical periodontology 30(6): 524-531.
- Strumylait , L., J. Ži kut , et al. (2006). "Salt-preserved foods and risk of gastric cancer." Medicina (Kaunas) 42(2): 164-170.
- Suzuki, H., T. Hibi, et al. (2007). "Helicobacter pylori: present status and future prospects in Japan." Journal of gastroenterology 42(1): 1-15.
- Tanih, N., L. Ndip, et al. (2010). "An overview of pathogenesis and epidemiology of Helicobacter pylori infection" African Journal of Microbiology Research 4(6): 426-236.
- Tomb, J., O. White, et al. (1997). "The complete genome sequence of the gastric pathogen Helicobacter pylori." Nature 388(6642): 539-547.
- Torres, M., C. Acosta, et al. (2004). "Susceptibilidad genética y riesgo de cáncer gástrico en una población del Cauca." Biomédica 24(2): 153-162.
- Trasovares, E. G. (2010). "Cáncer Gástrico. Condiciones precursoras y factores de riesgo " Boletín Oncológico del área sanitaria de Teruel
- Tsai, H. and P. Hsu (2010). "Interplay between Helicobacter pylori and immune cells in immune pathogenesis of gastric inflammation and mucosal pathology" Cellular & Molecular Immunology

- Tsugane, S. and S. Sasazuki (2007). "Diet and the risk of gastric cancer: review of epidemiological evidence." *Gastric Cancer* 10(2): 75-83.
- V. Aguirre, R. Q., N Brandan (2002). "Citoquinas." Universidad Nacional del Nordeste. Facultad de Medicina(Cátedra de Bioquímica): 18p.
- Verjans, E., E. Noetzel, et al. (2009). "Dual role of macrophage migration inhibitory factor(MIF) in human breast cancer." *BMC cancer* 9(1): 230.
- Wong, B., S. Zhu, et al. (2009). "Essential role for macrophage migration inhibitory factor in gastritis induced by *Helicobacter pylori*." *American Journal of Pathology* 174(4): 1319.
- Wu, M., L. Chen, et al. (2004). "Promoter polymorphisms of tumor necrosis factor- $\alpha$  are associated with risk of gastric mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma." *International Journal of Cancer* 110(5): 695-700.
- Yun, J., C. Xu, et al. (2009). "Epidemiology and gene markers of ulcerative colitis in the Chinese." *World Journal of Gastroenterology: WJG* 15(7): 788.
- Zhong-Wu Li, Y. W., Yu Sun, Lu-Ying Liu, Meng-Meng Tian, Guo-Shuang Feng, Wei-Cheng You, Ji-You Li (2010). "Inflammatory cytokine gene polymorphisms increase the risk of atrophic gastritis and intestinal metaplasia." *World J Gastroenterol* 16(14): 1788-1794.