

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA
FACULTAD DE CIENCIAS
MICROBIOLOGIA INDUSTRIAL**



**Estudio del polimorfismo -511 C-T de la interleuquina-1B en pacientes
diagnosticados con *H. pylori***

**JULIAN CAMILO CASAS VARGAS
ERIKA TATIANA GUERRERO CHAVARRO**

**TRABAJO DE GRADO
Presentado como prerrequisito parcial para otorgar el título de
MICROBIOLOGIA INDUSTRIAL**

BOGOTÁ D.C, 2011

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA
FACULTAD DE CIENCIAS
MICROBIOLOGIA INDUSTRIAL**

**JULIAN CAMILO CASAS VARGAS
ERIKA TATIANA GUERRERO CHAVARRO**

APROBADO

**Alba Alicia Trespacios MSc PhD
Director**

**Hugo Diez Ortega MSc PhD
Jurado**

NOTA DE ADVERTENCIA

Artículo 23 de la Resolución No 13 de Julio de 1946

“La Universidad no se hace responsable por los conceptos emitidos por sus alumnos en sus trabajos de tesis. Solo velará porque no se publique nada contrario al dogma y a la moral católica y porque las tesis no contengan ataques personales contra persona alguna, antes bien se vea en ellas el anhelo de buscar la verdad y la justicia”

Resumen

El cáncer gástrico es uno de los más comunes en la población, siendo el sexto en incidencia y el tercero en mortalidad a nivel mundial según los datos mostrados por la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC). La presencia de cáncer gástrico se asocia con una etiología multifactorial, entre los que se encuentran factores genéticos del huésped, medio ambientales y la dieta del individuo. Se ha observado que los genotipos C/T y T/T presentes en el polimorfismo IL-1B -511 están asociados a un mayor riesgo de padecer cáncer gástrico. El objetivo de este estudio fue determinar las frecuencias genotípicas del polimorfismo IL-1B -511 en pacientes con diferentes patologías gástricas, infectados con *Helicobacter pylori*. Se analizaron 46 muestras de DNA genotificadas por medio de la técnica de reacción en cadena de la polimerasas (PCR) y llevadas a secuenciación. Se encontró que solo el genotipo T/T del polimorfismo -511 estaba asociado con un aumento del riesgo de presentar metaplasia, lesión pre-maligna en el desarrollo de cáncer gástrico.

Índice de general

1. Introducción	7
2. Justificación y planteamiento del Problema	10
3. Objetivos	13
3.1 Objetivo General.....	13
3.2 Objetivos Específicos.....	13
4. Marco teórico	14
4.1 Incidencia.....	14
4.2 <i>Helicobacter pylori</i> , Generalidades.....	16
4.3 Interleuquina 1 β	18
5. Metodología	23
5.1 Diseño.....	23
5.2 Población.....	23
5.3 Muestra.....	23
5.4 Obtención de muestras.....	23
5.5 Obtención de DNA de las muestras.....	24
5.6 Genotipificación.....	24
5.7 Análisis estadístico.....	25
6. Resultados	26
6.1 Muestras.....	26
6.2 Frecuencia de las patologías en la muestras analizadas.....	26
6.3 Genotipificación del polimorfismo II-1B -511.....	27
6.4 Análisis de las secuencias del polimorfismo	27
6.5 Asociación de los genotipos con las patologías.....	28

7. Discusión.....	29
8. Conclusiones.....	33
9. Recomendaciones.....	34
10. Bibliografía.....	35

1. Introducción

El cáncer gástrico según la IARC (International Agency for research on Cancer) es una de las principales causas de muerte por cáncer en el mundo, ubicándose en la tercera posición precedido por el cáncer de pulmón y de seno (41). El desarrollo de esta patología sin embargo se debe a la interacción de diferentes factores, tanto del huésped (individuo enfermo), como de condiciones externas a él, como la dieta y la infección por *Helicobacter Pylori* (1, 2). Este patógeno es considerado un carcinógeno categoría I que está presente en más del 50% de la población mundial, debido a las características de patogenicidad que hacen que su supervivencia en el sistema gastrointestinal sea más factible (2-4). Entre los factores de virulencia más importantes esta la expresión de la proteína citotóxica de membrana *CagA* que induce la síntesis de citoquinas proinflamatorias y la proteína vacuolizante *VacA* que promueve la vacuolización de las células endoteliales del estomago (5-9,10).

La infección de *H. pylori* provoca en el huésped una respuesta pro-inflamatoria mediada por citoquinas como IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-12 y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) (4, 5, 11).

Este último factor, *H. pylori* parece ser de los más relevantes en el desarrollo del cáncer gástrico, considerando que la inflamación crónica promueve la atrofia de las células productoras de ácido gástrico (Células Perietales), algunos polimorfismos en genes relacionados con la expresión de proteínas de la respuesta inflamatoria (citoquinas) se han investigado como factores del huésped que pueden predisponer el desarrollo de carcinomas gástricos (4, 5,12).

Dentro de las citoquinas liberadas en el proceso inflamatorio sobre la infección por *H. pylori* la que más se ha relacionado como citoquina pro-inflamatoria es la IL-1 β , ésta, aumenta la respuesta inflamatoria y además es un fuerte inhibidor de la producción de ácido clorhídrico, fenómeno conocido como hipoclorhídria, este efecto además de favorecer la colonización de *H.pylori* pues al disminuir el pH se genera un ambiente más propicio para la supervivencia de la bacteria, también favorece la atrofia de las

células parietales encargadas de la producción y liberación del ácido gástrico al verse imposibilitadas de realizar su función (3, 13, 14).

Los polimorfismos presentes en esta citoquina son de tipo SNP (*single-nucleotide polymorphism*), es decir que se cambia una sola base nitrogenada, estudios previos han demostrado que diferentes polimorfismos dentro del gen de la IL-1B en diferentes posiciones (-31 y -511) permiten una sobreexpresión de la misma, generando así, un deterioro del tejido mucho mayor y en consecuencia un riesgo superior en el desarrollo de cáncer, los cambios que se generan son: en la posición -31 T por C y en la posición -511 C por T (2, 3, 6, 13, 15, 16).

El presente, fue un estudio piloto, desarrollado en una población colombiana que se sometió al estudio “Erradicación de *H. pylori*: triple terapia con levofloxacina” que se inicio en el año 2007 y desde entonces ha estado en seguimiento. Cada paciente que entro al estudio debió aprobar y firmar el consentimiento informado, todos los pacientes se sometieron a endoscopia de las vías digestivas altas, y se tomaron muestras de allí (biopsias) de cuerpo y antro, según el informe patológico de los 426 pacientes que ingresaron al estudio se tomaron 46 cuyos resultados de histopatología reflejaban un diagnostico más reservado, es decir que además de gastritis crónica presentaran metaplasia, pólipos hiperplásicos, hiperplasia foveolar, gastritis atrófica, eritematosa, erosiva o úlcera péptica. De estos pacientes se extrajeron muestras de sangre y se tomaron de allí los monocitos células de las cuales se extrajo el DNA para el presente estudio.

El DNA extraído se sometió a PCR para la amplificación de la fracción del gen donde estaba ubicado el polimorfismo de la posición -511, luego se corrió un gel para verificar el proceso de amplificación y se secuenciaron las 46 muestras, de estas solo se obtuvieron 36 secuencias. Como resultado encontramos que los dos polimorfismos (C/T y T/T) implicados en la sobreproducción de la citoquina se encontraron en la población estudiada y que además el que mostro mayor riesgo (OR) y asociación con la aparición de patologías más relacionadas con el desarrollo de cáncer gástrico fue el polimorfismo T/T.

Este es el primer estudio realizado en Colombia de este tipo, sería interesante poder replicarlo en un estudio a mayor escala y con patologías más severas, ya que este, en su dimensión, demostró resultados significativos que pueden aportar en el control y prevención de este tipo de patología que como bien ya vimos es resulta ser de gran impacto en nuestro país y el mundo en general.

2. Justificación y planteamiento del problema

El cáncer gástrico es una de las patologías con mayor frecuencia en todo el mundo, siendo el sexto en incidencia y la tercera causa de muerte por cáncer, según los datos reportados por la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC). En diversos estudios realizados se ha demostrado que la presencia de la bacteria *Helicobacter pylori* es la principal causa de distrofias gástricas y en consecuencia de la formación de células cancerígenas, al parecer, también la formación de estas está ligada a diferentes factores como la dieta y condiciones genéticas del huésped (1, 7).

La dieta es una condicional muy importante en el estudio de factores que pueden llevar a la formación de carcinomas gástricos, por ejemplo, una dieta rica en alimentos ahumados como cárnicos-embutidos que se someten a un proceso de humeo para alterar su sabor o alimentos cuyo conservante sea nitratos (cárnicos en lo general también), o aquellos cuyos aditivos tienen un alto contenido de colorantes, pueden favorecer la formación de cáncer gástrico, esto muy ligado a la producción de radicales libres por parte de estos alimentos (17, 18).

En cuanto a los factores genéticos del huésped, se han encontrado diferentes asociaciones entre el padecimiento de este tipo de cáncer y las poblaciones humanas de ciertas regiones; así por ejemplo, Europa es el continente que menos prevalencia muestra frente a esta enfermedad, en comparación con Asia que muestra el mayor número de víctimas por este tipo de cáncer, es así como se ha concluido que hay poblaciones en ciertas regiones, más susceptibles a padecer cáncer gástrico que otras, además la aparición de diferentes polimorfismos como es el objetivo del presente estudio, al parecer pueden favorecer una respuesta inflamatoria mayor a la infección con *H. pylori* y así mismo por diferentes mecanismos llevar a la formación de cáncer gástrico (19).

Dentro de los polimorfismos estudiados uno de los más importantes que ha sido asociado con el cáncer gástrico es el que se presenta en la región promotora del gen IL-1B que codifica para la producción de interleuquina-1 β (IL-1 β) en la ubicación -511, este presenta una transición de las bases C-T que afecta la transcripción de la citoquina . La IL-1 β , es una citoquina que induce la respuesta inflamatoria por parte del sistema inmune, estos polimorfismos promueven una mayor expresión de IL-1 β ; esta, inhibe la producción de ácidos gástricos, que son fundamentales para generar un ambiente ácido que además de ser necesario para la degradación y proceso de alimentos inhibe el crecimiento de posibles patógenos del tracto gastrointestinal (2, 3, 6, 13, 15, 16).

Helicobacter pylori, es un microorganismo microaerofílico, que inicialmente puede iniciar su nicho en el ambiente del estomago sin embargo cuenta con diferentes mecanismos bioquímicos que le permiten adaptar el ambiente gástrico a las condiciones óptimas que necesita para vivir y reproducirse. La infección por este microorganismo puede causar diferentes padecimientos gástricos, empezando por gastritis crónicas hasta atróficas así como también causar metaplasias y displasias debido a que las células gástricas sufren una atrofia, este fenómeno se debe principalmente a la reducción de la producción de ácido gástrico por parte de las células parietales del estómago, este efecto recibe el nombre de hipoclorhidria, si esta llega a una condición crónica, puede finalmente llevar a la formación de adenocarcinomas gástricos (8, 20).

En los estudios realizados hay una controversia entre los autores sobre si existe o no un efecto de la sobreexpresión de IL-1 β por los polimorfismos que presenta, en un aumento de la probabilidad de padecer cáncer gástrico. En Colombia se han realizado pocos estudios acerca de la relación del polimorfismo IL-1B -511 con la generación de cáncer gástrico y en ellos se muestra la misma controversia (21). Debido a que la presencia de cáncer gástrico depende de interacciones

multifactoriales y se presenta con mayor frecuencia en edades más avanzadas, es necesario realizar un seguimiento a través del tiempo a los pacientes que presentan los factores asociados a la generación de este tipo de cáncer y evaluar así, cuáles de estos puede presentar asociación con la formación de carcinomas; el fin de este estudio, es evaluar el tipo de polimorfismo del genotipo IL-1B -511 como factor genético que podría ser determinante en la formación de carcinomas gástricos.

3. Objetivos

3.1 Objetivo general

- Describir la frecuencia del polimorfismo IL-1B en pacientes con diferentes patologías gástricas infectados con *Helicobacter pylori*.

3.2 Objetivos específicos

- Determinar los polimorfismos de L-1B en la posición -511 en pacientes infectados con *H. pylori*.
- Evaluar si existe asociación entre los genotipos encontrados de IL-1B -511 y la presencia de diferentes patologías gástricas.

4. Marco Teórico

4.1 Incidencia

Según los datos presentados por la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC), el cáncer gástrico es uno de los más frecuentes en la población siendo el sexto en incidencia, y el tercero en mortalidad. Para el 2008 por cada 100.000 personas 14,1 presentaron un nuevo caso de cáncer gástrico, mientras que por cada 100.000, 10,3 murieron por la misma causa (resultados para individuos de ambos sexos a nivel mundial). El cáncer gástrico puede presentarse desde edades tempranas sin embargo la frecuencia de aparición del mismo aumenta conforme la edad incrementa, llegando a su máximo, después de los 75 años (Tabla 1)(41).

En 2008, de 737.419 muertes por cáncer gástrico en el mundo, el 47,82% correspondieron a pacientes mayores de 70 años y apenas el 17,99% correspondió a pacientes de entre 0 y 54 años, es decir que aproximadamente la mitad de los pacientes que murieron por este tipo de cáncer en 2008, correspondían a adultos mayores de 70 años (41), así esta es una de las principales causas de muertes en el mundo (1).

En América, Colombia es el octavo país en abonar más víctimas por esta causa, con una tasa estandarizada por edad (ASR (W)) de 13,6, Honduras es el país con mayor índice de muerte por cáncer gástrico, seguido de Guatemala, Ecuador, Costa Rica, Perú, Jamaica y Chile. Las tasas de incidencia y mortalidad en Colombia se ubican en el quinto y tercer lugar respectivamente, aunque sustancialmente afecta más a hombres que a mujeres, ubicándose para ellos en el segundo lugar en la tasa de incidencia y el primero en causa de muerte por cáncer, seguido de cáncer de pulmón y próstata; en mujeres es el tercero en incidencia y mortalidad superado por el cáncer de cuello uterino y de seno. En 2008, de 6638 casos identificados, 5073 desencadenaron en la muerte (41).

Cáncer Gástrico	Total	0-14	15-39	40-44	45-49	50-54	55-59	60-64	65-69	70-74	75+
Incidencia	988602	698	35270	35214	52581	81629	116100	118403	134918	152050	261739
Mortalidad	737419	443	24771	22037	33445	51994	75465	79443	97194	116549	236078

Tabla 1. Incidencia de cáncer en ambos sexos a nivel mundial, año 2008. Fuente: Agencia Internacional para la Investigación de cáncer.

Este cáncer se ha asociado a una etiología multifactorial, causado por factores genéticos y medio ambientales (1, 2, 7). El desarrollo de carcinomas gástricos puede tardar más de 20 años, dependiendo de la presencia de los diferentes factores que pueden estar involucrados (4).

En estudios realizados por Hsu et al. y Sugimoto et al. en los que analizan los factores que conllevan a la formación de cáncer gástrico, se ha encontrado que uno de los factores externos al individuo que conlleva a un riesgo de adquirir carcinomas gástricos, es la presencia de *Helicobacter pylori*, considerado como un carcinógeno categoría I (2, 3, 6, 8, 16, 20, 22), el cual está presente en más del 50% de la población mundial, aunque pocos pacientes desarrollan cáncer debido a las interacciones multifactoriales como lo son el grado de patogenicidad bacteriana, la predisposición genética y las costumbres alimenticias del paciente (2, 3, 4, 23).

En Colombia, según el Instituto Nacional de Cancerología, el cáncer gástrico es la primera causa de muerte por cáncer en hombres y la tercera en mujeres, después del cáncer de cuello uterino y de mama.

En estudios previos elaborados en Colombia, se muestran cifras realmente alarmantes frente a este problema, en la universidad del Valle en 1997, se realizó un estudio que abarcó diferentes zonas, del país: zona sur-occidental: Cali, Popayán y Pasto; zona norte: Cartagena, Barranquilla, Montería y Sincelejo; zona centro: Bogotá, Villavicencio, Tunja, Ibagué y Neiva; zona centro-occidental: Medellín, Manizales y Armenia; zona oriental: Cúcuta; este estudio arrojó que la zona centro es donde más casos de cáncer gástrico se encontraron, cerca del 30 % de los pacientes estudiados tenía cáncer gástrico, Tunja evidenció el mayor porcentaje de pacientes con *H. pylori*, 99,1%, aunque la ciudad con mayor incidencia de cáncer fue Ibagué

con un 30,9%; en las demás zonas del país fue alta la prevalencia de *H. pylori* pero no necesariamente de cáncer (24).

Así mismo se concluye que las zonas montañosas de Colombia ofrecen las más altas tasas de prevalencia y mortalidad por cáncer gástrico, en comparación con las bajas tasas de las zonas planas y costeras (24).

4.2 *Helicobacter pylori*, Generalidades

H. pylori es una bacteria flagelada, bacilar Gram negativa en forma de espiral que crece en condiciones microaerófilas, similares a las presentes en el estomago y puede resistir pHs muy ácidos. Este microorganismo puede llegar al sistema gastrointestinal por el consumo de alimentos y/o aguas contaminadas o por vías oro-oral o fecal-oral (10).

Uno de los factores de virulencia más importantes para la colonización de *H. pylori* es la presencia de una enzima llamada ureasa, la cual degrada la urea presente en el estomago generando dióxido de carbono (CO₂) e iones amonio (NH₃⁺) los cuales alcalinizan el pH normalmente ácido del estomago, facilitando colonización de la bacteria. Además, se incluyen otros factores como adhesinas (BabA), las cuales ayudan al microorganismo a adherirse más fácilmente a la mucosa gástrica, proteínas de choque térmico (Hsp) que inducen la producción de anticuerpos aumentando la inflamación, fosfolipasas encargadas de degradar los fosfolípidos presentes en la membrana de las células infectadas, debilitando su estructura, catalasa y superóxido dismutasa que contrarrestan la toxicidad producida por metabolitos presentes en el estomago (10).

Las cepas aisladas de *H. pylori* asociadas a cáncer gástrico tienen diferentes niveles de virulencia dependiendo de la expresión o no de la proteína citotóxica de membrana externa (CagA) y la proteína vacualizante (VacA). Estas proteínas al ser expresadas por la bacteria generan un mayor riesgo de presentar úlceras y cáncer gástrico (22, 25).

La proteína CagA se encuentra en el genoma bacteriano en la isla de patogenicidad *cagA* (CagPAI) y contiene 31 genes, de los cuales algunos codifican para proteínas de ensamblaje del sistema de secreción bacteriana tipo IV (TFSS) (10), el cual libera productos asociados a la infección celular, como la proteína *cagA* (9). La proteína CagA induce la síntesis de citoquinas pro-inflamatorias en el organismo como son las interleuquinas (3), esta proteína al ser sintetizada es traslocada al interior de la célula hospedera a través del sistema de secreción bacteriana tipo IV (TFSS). Una vez dentro, CagA es fosforilada por la familia de quinasas SRC y posteriormente por la quinasa c-ABL. Posteriormente el CagA fosforilado es unido y activado por SHP2 que actúa como una oncoproteína. Además, SHP2 transmite señales para el aumento del crecimiento celular y puede, junto con CagA inducir el rearrreglo del citoesqueleto, por lo cual, también es un factor importante en la inducción de carcinogénesis (9, 25).

Por otro lado, VacA codificada por el gen *vacA*, promueve la formación de vacuolas intracelulares, daño mitocondrial y liberación del citocromo *c* en las células del epitelio gastrointestinal, provocando apoptosis, además inhibe la proliferación de linfocitos T en la zona afectada, la fagocitosis y la presentación de antígenos mediadas por las células dendríticas (9, 13, 22).

Estas alteraciones provocadas por los factores de virulencia de *H. pylori*, conllevan a una persistente inflamación crónica, que se caracteriza por ser rica en citoquinas pro-inflamatorias y también la presencia de especies reactivas de oxígeno y nitrógeno producidas en las células fagocíticas, que al ser liberadas ocasionan daños celulares y un proceso de mutagénesis (13).

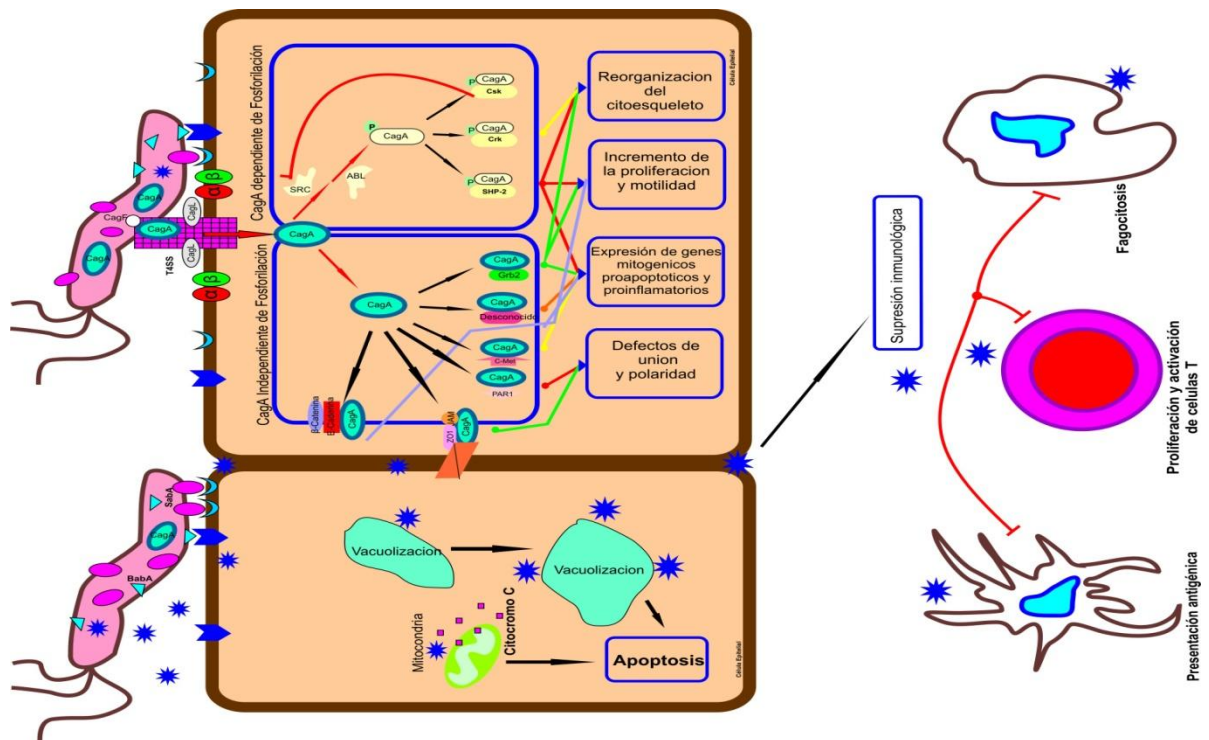


Fig. 1. Proceso de infección de *H. pylori* en la mucosa gástrica. Modificado de Wen et al 2009.

4.3 Interleuquina 1β

La infección de *H. pylori* en el huésped induce una respuesta inmunológica en la que se segregan varios tipos de interleuquinas como IL-1β, IL-2, IL-6, IL-12 y el factor de necrosis tumoral (TNF-α) en cantidades superiores a las normales (4, 5, 11). Estas citoquinas actúan como proteínas pro-inflamatorias que aumentan en la mucosa gástrica la inflamación y si esta se vuelve persistente desencadenará en inflamación crónica, la cual es una de las condiciones primarias para el desarrollo del cáncer gástrico (3, 4). Un efecto del aumento de la inflamación es la inhibición de la secreción de ácidos gástricos o hipoclorhidria, lo que resulta en una atrofia del epitelio gástrico y por lo tanto un alto riesgo de generar células carcinógenas. Conjuntamente, estos bajos niveles de ácidos gástricos en el estomago hacen que las condiciones ambientales, como es el caso del pH, para *H. pylori* sean más

favorables y pueda colonizar la mucosa gástrica más rápidamente, causando úlceras que también pueden fomentar la formación de carcinomas gástricos (4).

Una de las citoquinas más importantes y más estudiadas en la formación del cáncer gástrico es la interleuquina 1 β (IL-1 β), codificada por el gen IL-1B, ubicado en el cromosoma 2q; y está asociada a un mayor aumento de la inflamación de la mucosa gástrica que otro tipo de citoquinas, además de modular la expresión de otras citoquinas pro-inflamatorias (13, 26).

La hipoclorhidria generada por el efecto de la IL-1 β surge a partir de diferentes reacciones o interacciones entre células y moléculas que median este proceso. La producción de ácido clorhídrico en el estómago se lleva a cabo principalmente en las glándulas oxínticas localizadas en el fondo y cuerpo del estómago, y en ellas las células parietales liberan el producto, sin embargo, para llegar a este resultado median diferentes interacciones iniciales entre otras células. Las células G liberan gastrina, hormona encargada de estimular a las células ECL (Células Enterocromafines) para que estas a su vez liberen histamina, este mediador químico finalmente llega a los receptores H₂ de las células parietales para estimular así la producción de ácido gástrico por parte de estas últimas (27).

Por otra parte por estimulación vagal se produce acetilcolina, neurotransmisor que en este caso puntual puede interactuar directamente con las células parietales para estimular la producción de ácido gástrico y además estimula a las células ECL para que produzcan histamina (28).

Las prostaglandinas también median un papel importante dentro de este proceso, más exactamente la prostaglandina E-2 (PGE-2), al parecer las células parietales tienen un receptor unido a una proteína G inhibidora, lo que permite que al inducirse la producción de PGE-2 se inhiba la síntesis de ácido gástrico, IL 1 β induce la síntesis de ciclooxigenasa-2 (COX-2), enzima precursora de PGE-2 (29).

Los sitios durante el proceso en los que interviene IL-1 β para inducir la hipoclorhidria, son directamente aquellos que intervienen en la producción y liberación de la histamina necesaria para estimular a las células parietales. Cuando las células ECL

producen la histamina esta se almacena en vesículas y es secretada por la célula bajo estímulo con calcio; IL-1 β , al parecer interfiere impidiendo la entrada de calcio a la célula lo que impide la liberación de la histamina, además también está asociada a limitar la síntesis de histamina, pues este proceso también es mediado por la señalización del calcio. Las células ECL también pueden sintetizar óxido nítrico sintasa, esta enzima es precursora del Óxido Nítrico (NO), se ha demostrado que el NO activa la guanilil ciclasa (enzima encargada de la producción de cGMP), aumentando consecuentemente la concentración intracelular de cGMP; el aumento de esta molécula inhibe la síntesis de ácido (27, 28).

IL-1 β presenta tres importantes polimorfismos que se han reportado como probables factores que inciden en el aumento de la inflamación y consecuentemente una posible atrofia gástrica. Las mutaciones que este gen presenta son de una sola base nucleotídica, llamados SNP (*single-nucleotide polymorphism*) los cuales son: IL-1B -511, IL-1B -31 y IL-1B+3954, en donde comúnmente en los casos asociados con cáncer ocurre un cambio de C por T en la posición -511 y +3954, y un cambio de T por C en la posición -31. Estas mutaciones (-511 y -31) provocan una sobreexpresión de la citoquina, lo que induce una mayor respuesta inflamatoria, y como consecuencia conlleva a los efectos anteriormente mencionados (2, 3, 6, 13, 15, 16, 30).

Se ha reportado que el genotipo T/T del polimorfismo IL-1B -511 está asociado a un mayor riesgo de presentar carcinomas gástricos, Ruzzo et al, reporto un Odd Ratio (OR) de 3.9 para este genotipo, mientras que para el genotipo heterocigoto T/C este a penas llego a 1.6. Este estudio se realizó en pacientes de una Unidad Oncológica del centro de Italia (31). Al igual que el genotipo T/T, el alelo IL-1B -511T es el que presenta un mayor riesgo de incidencia de cáncer gástrico. En el meta-análisis realizado por Wang et al en el 2006, en el que se compararon estudios efectuados por diversos autores en diferentes países de Europa, Asia y América, mostró que existe un mayor riesgo de presentar cáncer gástrico cuando el alelo T del polimorfismo IL-1B -511 se presenta, observando un OR promedio de 1.26, aunque

teniendo un rango de variación entre 1.11 en el estudio mostrado por Huang et al. en el 2005, en la población de china; y de 3.61 mostrado por Figueiredo et al. en el 2002, en Portugal (32). Estas variaciones del riesgo de incidencia puede deberse a la diversidad genética y diferentes costumbres en las dietas alimenticias que se presenta en las diferentes poblaciones (13). En Colombia se han realizado pocos estudios acerca de esta asociación, es el caso del presentado por Jaramillo et al. (2010), en el que se reportó que no existe asociación entre el polimorfismo de la interleuquina 1B y el cáncer gástrico (21).

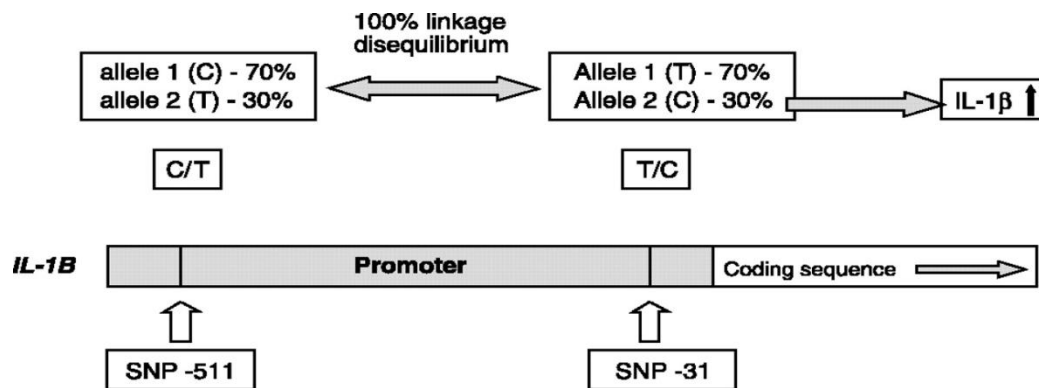


Figura 3. Mapa del gen IL-1B. Imagen tomada de Perez et al. 2005

La relación entre la predisposición genética, los factores de riesgo, entendidos como estilos de vida, y el cáncer gástrico están bastante ligados; en una población colombiana se encontró que variaciones (deleciones) enzimáticas en proteínas involucradas en la degradación de algunos carcinógenos ambientales, y una transición de G por A del promotor del TNF- α (factor de necrosis tumoral α), aumentan los casos de pacientes con cáncer gástrico; sin embargo al mirar las interacciones entre estas particularidades genéticas y costumbres como ingerir bebidas alcohólicas o ser un fumador recurrente aumenta las probabilidades de padecer este tipo de cáncer (33).

Factores determinantes como la raza también pueden predisponer o favorecer en mayor o menor proporción la aparición de estos polimorfismos, lo que a su vez

conlleva a la aparición de carcinomas gástricos, es así como en el trabajo de Sugimoto et al. se mostró que la prevalencia del alelo T en poblaciones caucásicas es más bajo comparado con otras poblaciones como las asiáticas (34).

Debido a que la presencia de cáncer gástrico depende de interacciones multifactoriales y se presenta con mayor frecuencia en edades más avanzadas, es necesario realizar un seguimiento a través del tiempo a los pacientes que presentan los factores asociados a la generación de este tipo de cáncer y evaluar así, cuáles de estos puede presentar asociación con la formación de carcinomas; el fin de este estudio, evaluar el tipo de polimorfismo del genotipo IL-1B -511 como factor genético que podría ser determinante en la formación de carcinomas gástricos. (13, 35).

5. Metodología

5.1 Diseño

Estudio observacional, descriptivo transversal.

5.2 Población

La población del estudio “Erradicación de *Helicobacter pylori*: triple terapia con levofloxacina”, incluyó a 426 pacientes con enfermedad ácido péptica que fueron sometidos a endoscopia de vías digestivas altas, tomando muestras de cuerpo y antro para análisis histopatológico. Los resultados de las biopsias gástricas permitieron determinar las lesiones del tejido y la patología sobre el mismo.

5.3 Muestra

Se incluyeron 46 pacientes de ambos sexos, mayores de 34 años, diagnosticados con *Helicobacter pylori* en biopsias de tejido gástrico, además debían presentar gastritis crónica de tipo atrófica, eritematoso o erosiva; entre otras lesiones gastrointestinales como metaplasia, pólipos hiperplásicos, hiperplasia foveolar y úlceras, atendidas en la Clínica Fundadores, Bogotá, Colombia.

Los pacientes que fueron incluidos firmaron previamente el consentimiento informado antes de ingresar al estudio, después de una explicación completa y detallada. Tanto el protocolo de investigación como el consentimiento informado fueron aprobados por el comité de ética e investigación de la institución en la cual se realizó el estudio.

5.4 Obtención de muestras

Las muestras se obtuvieron por venopunción, tomando 5 mL de sangre en un tubo estéril que contenía EDTA, realizado por un profesional en enfermería. Las muestras fueron almacenadas en refrigeración a -4 °C hasta el momento de su procesamiento.

5.5 Obtención de ADN de las muestras

De las muestras de sangre de cada paciente, se extrajeron respectivamente los monocitos. Para la extracción, las células se aislaron mediante centrifugación en un gradiente de densidad de Ficoll-Hypaque. (Anexo 1)

A partir de los monocitos, se extrajo el ADN utilizando el kit comercial DNAzol® (Invitrogen), siguiendo el procedimiento allí descrito (Anexo 2). El ADN de las muestras fue almacenado en congelación a -20 °C.

5.6 Genotipificación

El análisis del polimorfismo de IL-1B en la posición -511 fue amplificado por la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) realizada en el termociclador (C 1000-Series Thermal Cycling Platform), usando un volumen final de reacción de 50 µL, así: aproximadamente 250ng de ADN, 1,5 µL de cada primer (Forward: 5' -TGGCATTGATCTGGTTCATA-3' Reverse: 5' -GTTTAGGAATCTTCCCCTT-3'), 25 µL de GoTaq® Green Master Mix (Promega) y se ajustó el volumen con agua grado molecular. El ADN fue amplificado con las siguientes condiciones: 94°C por 5 minutos, seguida de 35 ciclos de un minuto a 94°C, un minuto a 57,5°C y un minuto a 72°C, y finalmente, un ciclo de extensión a 72°C por siete minutos. El producto que se obtuvo fue de 307 pb. El tamaño del segmento amplificado fue verificado por la técnica de electroforesis, agregando un alícuota de 5µL en un gel de agarosa 2% revelado con Bromuro de etidio.

El ADN amplificado de cada una de las muestras se envió a MacroGen Corea para su secuenciación. Por último, las secuencias se analizaron en busca del genotipo del polimorfismo IL-1B -511, alineándolas con la secuencia consenso (NG_008851.1) presente en la base de datos del National Center for Biotechnology Information (NCBI).

5.7 Análisis estadístico

Para evaluar la relación entre el genotipo presente en el polimorfismo de IL-1B -511 y cada una de las patologías presentadas en el estudio, se usó la prueba de *ji cuadrado* (χ^2). Para ello, se realizó tablas de contingencia de 2 x 2 teniendo en cuenta las variables dependientes e independientes, se determinó la frecuencia con la cual los genotipos y las patologías se presentaban en las muestras analizadas.

6. Resultados

6.1 Muestras

De las 46 muestras de pacientes analizadas, solo se incluyeron en el estudio 36, debido a que 10 de ellas no presentaron una buena calidad en su secuenciación y no se obtuvieron resultados confiables.

6.2 Frecuencia de las patologías en las muestras analizadas

En el estudio se analizaron muestras que presentaran las patologías más severas asociadas a problemas gastrointestinales, estas patologías se muestran en la tabla 2. La metaplasia fue la patología más frecuente, estando presente en el 33,33% de las muestras, seguidas por pacientes que presentaron gastritis atrófica sumada a esta misma patología en un 16,7%, las demás patologías se distribuyeron en pocos casos.

Patologías	Frecuencia	Porcentaje
Hiperplasia	4	11,1
Pólipos	1	2,8
Metaplasia	12	33,3
Gastritis atrófica	3	8,3
Gastritis erosiva	2	5,6
Gastritis eritematosa	2	5,6
Úlcera	1	2,8
Metaplasia y gastritis atrófica	6	16,7
Metaplasia y úlcera	1	2,8
Polipos y gastritis eritematosa	1	2,8
Gastritis eritematosa y úlcera	1	2,8
Hiperplasia y metaplasia	1	2,8
Polipos y Gastritis eritematosa	1	2,8
Total	36	100

Tabla 2. Frecuencia de las patologías en las muestras analizadas

6.3 Genotipificación del polimorfismo IL-1B -511

Las muestras amplificadas por PCR se verificaron por electroforesis en gel de agarosa al 2% y revelados con bromuro de etidio, en donde se obtuvieron bandas de aproximadamente 307 pb, como se observa en la figura 2.

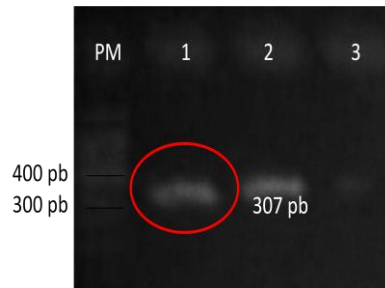


Figura 2. 1: muestra 46, 2: muestra 53 3: muestra 63

6.4 Análisis de secuencias del polimorfismo IL-1B -511

De las 36 muestras analizadas se mostró que los genotipos presentados se distribuyeron con una frecuencia similar entre ellos, siendo el silvestre el más frecuente con un 38,9% seguido por el genotipo heterocigoto C/T con el 33,3%; y por último el genotipo homocigoto T/T con el 27,8% (Tabla 3).

Genotipo	Frecuencia	Porcentaje
C/C	14	38,9
C/T	12	33,3
T/T	10	27,8
Total	36	100,0

Tabla 3. Frecuencia genotípica de los polimorfismos

6.5 Asociación de los genotipos con las patologías

Para determinar la relación existente entre los genotipos del polimorfismo IL-1B -511 y las patologías se realizó una tabla de contingencia 2 x 2 para estimar el riesgo

dado en Odd Ratio (OR) con un intervalo de confianza del 95%. En la Tabla 4 se muestra el resultado de las asociaciones. La asociación entre los pacientes que presentaban metaplasia y el genotipo T/T fue el único que mostró una significancia del 5%, es decir, una asociación existente.

Patología	Polimorfismo	OR	IC 95%		Significancia
Hiperplasia	C/C	0,487	0,046	5,21	NS
	C/T	2,2	0,27	17,92	NS
	T/T	0,852	0,078	9,3	NS
Metaplasia	C/C	0,7	0,164	2,98	NS
	C/T	0,28	0,05	1,56	NS
	T/T	5,0	1,05	23,79	S
Gastritis Atrofica	C/C	0,769	0,063	9,37	NS
	C/T	1,0	0,811	1,23	NS
	T/T	1,333	0,107	16,57	NS
Metaplasia/Gastritis Atrofica	C/C	0,75	0,118	4,76	NS
	C/T	1,0	0,156	6,42	NS
	T/T	1,375	0,21	9,01	NS

Tabla 4. Relación de los genotipos con las patologías presentadas en las muestras (NS: no significativo, S: Significativo)

7. Discusión

El desarrollo de adenocarcinomas gástricos es el resultado de una inflamación persistente (crónica) de la mucosa gástrica, es decir que para llegar a la formación de los mismos, el tejido debe pasar por diferentes estadios en los que la sobre infección y la persistente inflamación llevan a la cambio en el tejido relacionados con la aparición del cáncer (36). Se podría decir que un momento temprano en el desarrollo de cáncer gástrico es la gastritis crónica, sin embargo diferentes factores pueden realmente llevar a la formación del mismo (36). Dentro de las múltiples patologías gástricas, las más asociadas con el desarrollo de cáncer son la gastritis atrófica, linfoma MALT, metaplasia intestinal, displasia, pólipos hiperplásicos, y la hiperplasia foveolar (15, 37).

En la cohorte de pacientes que ingresaron al estudio “Erradicación de *H. pylori*: triple terapia con levofloxacin”, la patología que se encontró con mayor prevalencia fue gastritis crónica corpoantral. El desarrollo de esta, al igual que el cáncer gástrico, se debe a causas multifactoriales, entre ellas el abuso de analgésicos como AINES (Anti-inflamatorios no Esteroideos), una dieta no balanceada, el estrés, desordenes autoinmunes y por último la infección por *H. pylori*. Sin embargo la gastritis crónica al parecer en sí misma no es una patología “pre-maligna”, a diferencia de las evoluciones de la misma, que si pueden llevar a la formación de carcinomas gástrico, motivo por el cual la muestra para el presente estudio, se determinó tomando aquellos pacientes estuvieran dentro de estos criterios de inclusión (36).

Se escogió dentro de la población de estudio pacientes que tuvieran patologías severas que están reportadas como posibles desencadenantes de cáncer gástrico, entre ellas se encuentran la gastritis atrófica y metaplasia, por lo que la frecuencia con la que se presentan en las muestras analizadas son mayores que otras patologías (Tabla 2) (38, 39).

La interleuquina 1 β es producida como una respuesta pro-inflamatoria a la infección por *H. pylori* en el sistema gastrointestinal. Como efecto secundario, la IL-1 β inhibe la secreción de ácidos gástricos, generando hipoclorhidria, que posteriormente, si se vuelve persistente, puede provocar una atrofia en las células epiteliales del estomago que puede conllevar a la formación de carcinomas gástricos (4, 5, 11,14).

Se ha descrito que el gen de la IL-1 β presenta tres polimorfismos que están asociados como factores de riesgo a padecer cáncer gástrico, estos están en las posiciones -511, -31 y +3954. Los más importantes son los que se encuentran en región promotora del gen (-511 y -31), debido a que las secuencias donde se encuentran estas posiciones son reconocidas por factores de transcripción y las variantes polimórficas pueden afectar la unión de estos a la secuencia, produciendo una disminución o un aumento de la expresión de la proteína, es el caso del polimorfismo -511 en el que el genotipo T/T parece aumentar la secreción de IL-1 β (13). Como consecuencia, este genotipo está más asociado a la aparición de lesiones gástricas más severas y relacionadas con la aparición de adenocarcinomas gástricos, en comparación del genotipo C/T que también reporta riesgo, aunque en valores inferiores a los mostrados por el genotipo T/T; y al genotipo tipo silvestre C/C que no presenta asociación (13, 32).

Los resultados del estudio mostraron que el genotipo más frecuente fue C/C seguido por C/T y T/T, respectivamente (Tabla 3). Comparados con estudios realizados en Europa, los datos muestran que hubo un comportamiento similar en su aparición, presentándose en esta población un 44,77% para el genotipo C/C, 42,16% para C/T y 13,1% para T/T (40), a diferencia de poblaciones asiáticas e hispanas en las que el genotipo más frecuente fue el heterocigoto C/T con un 50,65% y un 46,3%, seguido de T/T con 27,27% y 34,7%; y por último C/C con un 22,08% 19,0%, respectivamente para cada uno de los genotipos (8, 26). Este comportamiento de las frecuencias de los genotipos del estudio, similar al de las poblaciones caucásicas y

no al de los estudios realizados por Chiurillo et al. en la población venezolana y por Jaramillo et al. en Colombia, puede ser debido a que el tamaño de la muestra utilizada no es significativa, debido a que es un estudio piloto; y tampoco se realizó la selección de muestras aleatoriamente, por lo que los resultados obtenidos no necesariamente reflejan la tendencia de la población colombiana (8, 21).

Con respecto a la relación de estos genotipos con las diferentes patologías de las muestras analizadas, se observa que solo el genotipo homocigoto T/T es un factor de riesgo asociado a presentar metaplasia en los pacientes (Tabla 4), sin embargo este intervalo es muy amplio (1,05 – 23,79), y para poder concluir con mayor precisión la asociación entre el polimorfismo T/T y la patología metaplasia es necesario realizar un estudio con un tamaño de muestra mayor.

En la literatura revisada no se encontró ningún estudio donde se analizará la asociación de los genotipos del polimorfismo con las patologías pre-malignas presentadas por este estudio, por esta razón, es necesario asociar los resultados de éste de una forma indirecta con los resultados reportados por otros autores que relacionan los genotipos con la presencia de cáncer gástrico.

En los análisis presentados por Feng et al. y Ruzzo et al. muestran que el genotipo asociado a un mayor riesgo de padecer cáncer gástrico es el T/T con un OR de 3,9 y 3,2 respectivamente, así, el presente estudio reportó un OR de 5,0 para el mismo genotipo asociado a la patología premaligna metaplasia (13, 31).

La asociación entre el genotipo T/T y el posible desarrollo de cáncer gástrico se ha evidenciado en mayor medida en poblaciones caucásicas que en asiáticas, aunque el genotipo se presente con menor frecuencia en la población europea (34, 40). Sin embargo, para poblaciones hispanas no se tiene muy clara la asociación entre los

genotipos del polimorfismo y el cáncer gástrico por los pocos estudios desarrollados; por lo que no es posible hacer una comparación precisa con estos estudios (8, 21).

Este es el primer estudio realizado en Colombia en el que se analizó la asociación entre los genotipos del polimorfismo IL 1B -511 y el desarrollo de patologías relacionadas con la formación de adenocarcinomas gástricos, por lo tanto muy importante y base para el adelanto de mas investigaciones similares pero a mayor escala; el cáncer gástrico sigue siendo una gran problemática de salud a nivel mundial, así el aporte de esta investigación para determinar y entender uno de los múltiples factores implicados en el desarrollo de esta patología, permitirá a futuro evitar que pacientes con factores de riesgo como este desarrollen adenocarcinomas gástricos.

8. Conclusiones

El genotipo más frecuente para esta cohorte fue el tipo silvestre (C/C) y el menos frecuente T/T el único con asociación a una de las patologías (metaplasia).

Los polimorfismos C/T y T/T de la interleuquina 1B en la posición -511 se encontraron en los pacientes del estudio, sin embargo solo este último presentó asociación con una de las patologías relacionadas con el desarrollo de adenocarcinomas gástricos. Los resultados obtenidos en el presente estudio son muy importantes pues demuestran en un estudio piloto la posible asociación entre patologías gástricas pre-malignas y la presencia de uno de los polimorfismos de la IL-1B en la posición -511.

9. Recomendaciones

- Se recomienda el uso de pacientes control que permitan ver la interferencia de otros factores en el desarrollo del estudio.
- Se recomienda que el número de la muestra sea mucho mayor para poder encontrar una asociación más concluyente entre las patologías y los polimorfismos.
- Se recomienda que la muestra incluya pacientes con patologías tales como displasia, linfoma MALT e incluso cáncer para obtener resultados más concluyentes con relación a la asociación de la formación de adenocarcinomas con la presencia de los polimorfismos.
- Se recomienda hacer estudios que incluyan los polimorfismos de la IL 1B en la posición -31 también asociados con el desarrollo de cáncer gástrico, y determinar si hay un efecto “sinérgico” entre los polimorfismos de ambas posiciones.

10. Bibliografía

1. Neves Filho EH, Alves MK, Lima VP, Rabenhorst SH. MTHFR C677T polymorphism and differential methylation status in gastric cancer: an association with *Helicobacter pylori* infection. *Virchows Archiv : an international journal of pathology*. 2010; **457** (6):627-33.
2. Chen A, Li CN, Hsu PI, Lai KH, Tseng HH, Hsu PN, et al. Risks of interleukin-1 genetic polymorphisms and *Helicobacter pylori* infection in the development of gastric cancer. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2004; **20** (2):203-11.
3. Martinez-Carrillo DN, Garza-Gonzalez E, Betancourt-Linares R, Monico-Manzano T, Antunez-Rivera C, Roman-Roman A, et al. Association of IL1B -511C/-31T haplotype and *Helicobacter pylori* vacA genotypes with gastric ulcer and chronic gastritis. *BMC gastroenterology*. 2010; **10**:126.
4. Sugimoto M, Yamaoka Y, Furuta T. Influence of interleukin polymorphisms on development of gastric cancer and peptic ulcer. *World journal of gastroenterology : WJG*. 2010; **16** (10):1188-200.
5. Sugimoto M, Furuta T, Yamaoka Y. Influence of inflammatory cytokine polymorphisms on eradication rates of *Helicobacter pylori*. *Journal of gastroenterology and hepatology*. 2009; **24** (11):1725-32.
6. Hsu PI, Li CN, Tseng HH, Lai KH, Hsu PN, Lo GH, et al. The interleukin-1 RN polymorphism and *Helicobacter pylori* infection in the development of duodenal ulcer. *Helicobacter*. 2004; **9** (6):605-13..
7. Hishida A, Matsuo K, Goto Y, Hamajima N. Genetic predisposition to *Helicobacter pylori*-induced gastric precancerous conditions. *World journal of gastrointestinal oncology*. 2010; **2** (10):369-79.
8. Chiurillo MA, Moran YH, Canas M, Valderrama EJ, Armanie E. Infection with specific *Helicobacter pylori*-cag pathogenicity island strains is associated with interleukin-1B gene polymorphisms in Venezuelan chronic gastritis patients. *Digestive diseases and sciences*. 2011; **56**(2):449-56.
9. Wen S, Moss SF. *Helicobacter pylori* virulence factors in gastric carcinogenesis. *Cancer letters*. 2009; **282** (1):1-8.
10. Acosta N, Quiroga A, Delgado P, Bravo MM, Jaramillo C. *Helicobacter pylori* CagA protein polymorphisms and their lack of association with pathogenesis. *World journal of gastroenterology: WJG*. 2010;**16** (31):3936-43.
11. Yoo EJ, Park SY, Cho NY, Kim N, Lee HS, Kim D, et al. Influence of IL1B polymorphism on CpG island hypermethylation in *Helicobacter pylori*-infected gastric cancer. *Virchows Archiv : an international journal of pathology*. 2010; **456** (6):647-52.
12. Machado JC, Figueiredo C, Canedo P, Pharoah P, Carvalho R, Nabais S, et al. A proinflammatory genetic profile increases the risk for chronic atrophic gastritis and gastric carcinoma. *Gastroenterology*. 2003; **125** (2):364-71.
13. Feng Y, Zhang J, Dai L, Zhang J, Wang P, Zang J, et al. Inflammatory cytokine gene polymorphisms in gastric cancer cases' and controls' family members from Chinese areas at high cancer prevalence. *Cancer letters*. 2008; **270** (2):250-9.

14. Furuta T, El-Omar EM, Xiao F, Shirai N, Takashima M, Sugimura H. Interleukin 1beta polymorphisms increase risk of hypochlorhydria and atrophic gastritis and reduce risk of duodenal ulcer recurrence in Japan. *Gastroenterology*. 2002;**123** (1):92-105.
15. Hwang IR, Kodama T, Kikuchi S, Sakai K, Peterson LE, Graham DY, et al. Effect of interleukin 1 polymorphisms on gastric mucosal interleukin 1beta production in Helicobacter pylori infection. *Gastroenterology*. 2002; **123** (6):1793-803.
16. El-Omar EM, Carrington M, Chow WH, McColl KE, Bream JH, Young HA, et al. Interleukin-1 polymorphisms associated with increased risk of gastric cancer. *Nature*. 2000; **404** (6776):398-402.
17. Kelley JR, Duggan JM. Gastric cancer epidemiology and risk factors. *Journal of clinical epidemiology*. 2003; **56**(1):1-9.
18. Forman D, Burley VJ. Gastric cancer: global pattern of the disease and an overview of environmental risk factors. *Best practice & research Clinical gastroenterology*. 2006; **20** (4):633-49.
19. Xue H, Lin B, Ni P, Xu H, Huang G. Interleukin-1B and interleukin-1 RN polymorphisms and gastric carcinoma risk: a meta-analysis. *Journal of gastroenterology and hepatology*. 2010; **25** (10):1604-17.
20. Rad R, Prinz C, Neu B, Neuhofer M, Zeitner M, Volland P, et al. Synergistic effect of Helicobacter pylori virulence factors and interleukin-1 polymorphisms for the development of severe histological changes in the gastric mucosa. *The Journal of infectious diseases*. 2003; **188** (2):272-81.
21. Arango MT, Jaramillo C, Montealegre MC, Bohorquez MH, Delgado Mdel P. Genotipificación de los polimorfismos -511, -31 y +3954 del gen de la interleucina-1 beta humana en una población colombiana con cuadro de dispepsia.. *Biomedica : revista del Instituto Nacional de Salud*. 2010; **30** (2):199-206.
22. Sugimoto M, Zali MR, Yamaoka Y. The association of vacA genotypes and Helicobacter pylori-related gastroduodenal diseases in the Middle East. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases: official publication of the European Society of Clinical Microbiology*. 2009; **28** (10):1227-36.
23. Pineros M, Hernandez G, Bray F. Increasing mortality rates of common malignancies in Colombia: an emerging problem. *Cancer*. 2004; **101** (10):2285-92.
24. Bravo L, Cortés A, Carrascal E, Jaramillo R, García L, Bravo P, et al. Helicobacter pylori: patología y prevalencia en biopsias gástricas en Colombia. *Colombia médica*. 2003; **34** (3):124-131.
25. Tammer I, Brandt S, Hartig R, Konig W, Backert S. Activation of Abl by Helicobacter pylori: a novel kinase for CagA and crucial mediator of host cell scattering. *Gastroenterology*. 2007; **132** (4):1309-19.
26. Zhang WH, Wang XL, Zhou J, An LZ, Xie XD. Association of interleukin-1B (IL-1B) gene polymorphisms with risk of gastric cancer in Chinese population. *Cytokine*. 2005; **30** (6):378-81.
27. Prinz C, Neumayer N, Mahr S, Classen M, Schepp W. Functional impairment of rat enterochromaffin-like cells by interleukin 1 beta. *Gastroenterology*. 1997;**112** (2):364-75.

28. Berg A, Redeen S, Grenegard M, Ericson AC, Sjostrand SE. Nitric oxide inhibits gastric acid secretion by increasing intraparietal cell levels of cGMP in isolated human gastric glands. *American journal of physiology Gastrointestinal and liver physiology*. 2005; **289** (6):G1061-6.
29. Zhao CM, Wang X, Friis-Hansen L, Waldum HL, Halgunset J, Wadstrom T, et al. Chronic Helicobacter pylori infection results in gastric hypoacidity and hypergastrinemia in wild-type mice but vagally induced hypersecretion in gastrin-deficient mice. *Regulatory peptides*. 2003; **115** (3):161-70.
30. Perez-Perez GI, Garza-Gonzalez E, Portal C, Olivares AZ. Role of cytokine polymorphisms in the risk of distal gastric cancer development. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention: a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*. 2005; **14** (8):1869-73.
31. Ruzzo A, Graziano F, Pizzagalli F, Santini D, Battistelli V, Panunzi S, et al. Interleukin 1B gene (IL-1B) and interleukin 1 receptor antagonist gene (IL-1RN) polymorphisms in Helicobacter pylori-negative gastric cancer of intestinal and diffuse histotype. *Annals of oncology: official journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO*. 2005; **16** (6):887-92.
32. Wang P, Xia HH, Zhang JY, Dai LP, Xu XQ, Wang KJ. Association of interleukin-1 gene polymorphisms with gastric cancer: a meta-analysis. *International journal of cancer Journal international du cancer*. 2007; **120** (3):552-62.
33. Crew KD, Neugut AI. Epidemiology of gastric cancer. *World journal of gastroenterology: WJG*. 2006; **12** (3):354-62.
34. Sugimoto M, Furuta T, Shirai N, Nakamura A, Xiao F, Kajimura M, et al. Different effects of polymorphisms of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-1 beta on development of peptic ulcer and gastric cancer. *Journal of gastroenterology and hepatology*. 2007; **22** (1):51-9.
35. Vilaichone RK, Mahachai V, Tumwasorn S, Wu JY, Graham DY, Yamaoka Y. Gastric mucosal cytokine levels in relation to host interleukin-1 polymorphisms and Helicobacter pyloricagA genotype. *Scandinavian journal of gastroenterology*. 2005; **40** (5):530-9.
36. de la Torre-Bravo A, Kettenhofen-Enriquez W, Roesch-Dietlen F, Rodriguez-Moguel L, Mejia-Novelo A, Peniche-Bojorquez J. *Revista de gastroenterologia de Mexico*. 2010; **75** (2):237-9.
37. Kim SS, Ruiz VE, Carroll JD, Moss SF. Helicobacter pylori in the pathogenesis of gastric cancer and gastric lymphoma. *Cancer letters*. 2011; **305** (2):228-38.
38. Zambon CF, Basso D, Navaglia F, Germano G, Gallo N, Milazzo M, et al. Helicobacter pylori virulence genes and host IL-1RN and IL-1beta genes interplay in favouring the development of peptic ulcer and intestinal metaplasia. *Cytokine*. 2002; **18** (5):242-51.
39. Asaka M, Sugiyama T, Nobuta A, Kato M, Takeda H, Graham DY. Atrophic gastritis and intestinal metaplasia in Japan: results of a large multicenter study. *Helicobacter*. 2001; **6** (4):294-9.

40. Camargo MC, Mera R, Correa P, Peek RM, Jr., Fontham ET, Goodman KJ, et al. Interleukin-1beta and interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphisms and gastric cancer: a meta-analysis. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention: a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*. 2006; **15** (9):1674-87.

Citas Virtuales

41. GLOBOCAN 2008 (IARC) Section of Cancer Information. <http://globocan.iarc.fr/>. Consultado el 20 de octubre de 2011.