
CÁNCER GÁSTRICO, TABAQUISMO, CONSUMO DE LICOR , ESTRATO SOCIOECONÓMICO Y POLIMORFISMO EN EL CODON 72 DEL GEN P53 EN UNA POBLACIÓN DE MANIZALES

Dora Cardona Rivas¹
Eduardo Castaño Molina²
Juan Carlos Marín Marmolejo³

RESUMEN

PROPÓSITO: las variantes polimórficas del codon 72 del gen supresor tumoral P53 (TP53), han sido relacionadas con incrementada susceptibilidad a ciertos tipos de neoplasias, y por esta razón exploramos la posible relación de estos polimorfismos, e interacción con factores sociodemográficos como el hábito de fumar, el consumo de licor y el estrato socioeconómico, con el cáncer gástrico (CG) en una población colombiana de alto riesgo. **MATERIALES Y MÉTODOS:** durante 18 meses fueron colectados los casos de cáncer gástrico identificados en el Hospital de Caldas de la ciudad de Manizales, Colombia. Inicialmente se identificaron 75 pacientes, de los cuales 65 cumplieron los criterios de inclusión para el estudio. De cada participante se obtuvo una muestra de sangre periférica en EDTA. Se extrajo el ADN por el método de salting out y la genotipificación de p53 se determinó por medio de la técnica PCR-RFLP. **RESULTADOS:** no se encontraron diferencias significativas en las frecuencias para las variantes del codon 72 del gen supresor P53, entre pacientes y controles (*Arg/Arg*=47.7; *Arg/Pro*=38.5; *Pro/Pro*=13.8%; y *Arg/Arg*=49.2; *Arg/Pro*=41.5 y *Pro/Pro*=9.2, respectivamente), ni tampoco cuando se estimó la interacción con el tabaquismo. Hubo una leve interacción con el estrato socioeconómico, pero es más fuerte

GASTRIC CANCER, TOBACCO USAGE, ALCOHOL CONSUMPTION, SOCIOECONOMIC STRATIFICATION AND POLYMORPHISM IN CODON 72 OF GENE P53 IN A POPULATION OF MANIZALES

ABSTRACT

The polymorphic variants of codon 72 of the tumor suppressor gene P53 (*TP53*) have been related with increased susceptibility to certain types of neoplasms, and for this reason we explored the possible relationship of these polymorphisms and interaction with demographic factors such as tobacco usage, alcohol consumption and socioeconomic stratification, with gastric cancer (GC) in a high risk Colombian population. Gastric cancer cases identified at the Hospital de Caldas in the city of Manizales, Colombia were collected for 18 months. Seventy-five patients were initially identified, from which 65 complied the inclusion criteria for the study. An EDTA peripheral blood sample was obtained from every participant. DNA was extracted with the salting out method and the P53 genotyping was determined for RFLP-PCR. No significant differences in the frequencies for variants of codon 72 of the tumor suppressor gene (*TP53*) between patients

¹ Departamento de Ciencias Básicas. Grupo de Investigación BIMSA. Facultad de Salud. Universidad Autónoma de Manizales.

² Departamento de Ciencias Básicas de la Salud. Grupo de investigación Biosalud. Facultad de Ciencias. para la Salud. Carrera 24 calle 46. Telefax: 8783060 Ext. 31259. Universidad de Caldas. También pertenece al Departamento de Ciencias Básicas. Grupo de Investigación BIMSA. Facultad de Salud. Universidad Autónoma de Manizales. E-mail: eduardo.castano@ucaldas.edu.co

³ Departamento Clínico Quirúrgico. Facultad de Ciencias para la Salud. Universidad de Caldas.

su efecto independiente sobre el riesgo a CG. CONCLUSIÓN: estos resultados no identificaron una asociación entre el polimorfismo del codon 72 de p53, ni interacción de estas variantes polimórficas, con el tabaquismo, el consumo de licor y el riesgo a CG en esta población. Se evidencia un efecto mayor del tabaquismo y el estrato socioeconómico con el riesgo a CG.

Palabras clave: Cáncer gástrico, p53, polymorphisms, tobacco smoking, socioeconomic stratum, Colombia.

and controls were found ($Arg/Arg=47.7$; $Arg/Pro=38.5$; $Pro/Pro=13.8\%$; and $Arg/Arg=49.2$; $Arg/Pro=41.5$ and $Pro/Pro=9.2$, respectively), nor when the interaction with tobacco usage was estimated. These results did not identify an association between the polymorphism of codon 72 of the tumor suppressor gene P53, nor any interaction of these polymorphic variants, with tobacco usage, alcohol consumption and the risk of GC in this population. A higher effect is seen from tobacco usage and socioeconomic stratification on the GC risk.

Key words: Gastric cancer, p53, polymorphisms, tobacco usage, socioeconomic stratification, Colombia.

INTRODUCCIÓN

La incidencia de cáncer gástrico (CG) ha ido declinando en los últimos años, pero esta patología aún es una de las mayores causas de muertes por cáncer en el mundo (1). En Colombia, el CG se ha convertido en un problema de salud pública, debido a que ocupa el primer lugar entre las causas de muerte por cáncer; en el año 2002 las tasas de mortalidad fueron: 27,8/100.000 hombres y 15,7/100.000 mujeres (2). La distribución geográfica es heterogénea y predomina en las zonas altas de las cordilleras (3), entre las que se encuentra el departamento de Caldas, cuya capital (Manizales) registra elevadas tasas de mortalidad por CG, y ha sido la primera causa de muerte por cáncer en los últimos años; para el 2005 fueron 17,5 muertes por 100.000 habitantes (Secretaría de Salud Pública de Manizales, 2005). Por esta razón, se consideró necesario abordar el estudio en esta zona y evaluar los factores de riesgo asociados.

El CG es multicausal, y en su etiología participan factores externos con potencial para desencadenar respuestas anormales en las células o interferir en sus procesos normales de proliferación. Entre estos factores se encuentran la exposición ocupacional o ambiental a xenobióticos, tales

como los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs), aminas aromáticas heterocíclicas (AAHs), compuestos nitrogenados (CN) y la infección por *Helicobacter pylori*. Algunos de los xenobióticos mencionados son metabolizados por el organismo mediante la participación de enzimas de oxidación y conjugación, lo que genera metabolitos altamente reactivos, con capacidad genotóxica que pueden causar daños en el genoma.

En respuesta a estos daños, se induce la expresión de un conjunto de proteínas coordinadas por una red de genes, en la cual el gen supresor tumoral p53 juega un papel primordial. El producto del gen p53 es una proteína de 393 aminoácidos, que actúa primariamente como un factor de transcripción que ejerce su efecto activando o reprimiendo una red génica comprometida en la progresión normal del ciclo celular, que hace que el ciclo avance o se detenga, e induce mecanismos reparadores del genoma en el momento indicado; o si lo requiere, induce los mecanismos que desencadenen la apoptosis (4,5). Las funciones de p53 van dirigidas a mantener la estabilidad genómica (6), por lo que se le ha denominado el "Guardian del Genoma" (4).

El polimorfismo del codon 72 del gen p53 y su relación con el riesgo a desarrollar CG, ya han

sido estudiados en otras poblaciones (5). El exón cuatro es uno de los más grandes del gen p53, tiene 111 pares de bases y codifica el aminoácido 33 al 125 (codones 33 al 125) (4); y en el codon 72 de este exon existe un polimorfismo que da origen a tres posibles combinaciones genotípicas, así: (CGC/CGC), que codifica arginina (*Arg/Arg*); CGC/CCC, que codifica *Arg/Pro* y la variante CCC/CCC, que es homocigótica para prolina (*Pro/Pro*)(5). La proteína p53 codificada por el alelo *Pro* no media eficientemente la transcripción y sus funciones reparadoras se ven disminuidas, lo que hace que las células no remuevan los daños genómicos fielmente y permiten que se vayan acumulando mutaciones, que pueden ser funestas para el control del ciclo celular y desencadenar procesos neoplásicos (7). De esta manera, las personas que presenten en su línea germinal el polimorfismo *Pro/Pro* de p53 tienen una susceptibilidad heredada al cáncer, cuyo riesgo se puede incrementar si la persona está expuesta a agentes que inducen errores en el ADN. En síntesis, el polimorfismo de p53 puede modular la respuesta a carcinógenos ambientales y en algo afectar el riesgo de desarrollar neoplasias, entre ellas el CG.

Con este proyecto se exploró si en esta población hay una posible asociación entre el polimorfismo del codon 72 de p53 y el riesgo de desarrollar CG, y sus posibles interacciones con algunos factores socio-demográficos, como el hábito del tabaquismo, el consumo de licor y el estrato socioeconómico; ya que estudios previos en otras poblaciones sugieren una predisposición a la enfermedad asociada con la exposición a estos factores externos en los que hay presencia de HAPs, AAHs y CN (8,9). De ser así, con este estudio se busca establecer pautas no solo para identificar poblaciones asintomáticas, genéticamente susceptibles y expuestas a factores de riesgo, sino también para implementar programas de vigilancia epidemiológica más eficaces que permitan disminuir la incidencia, morbilidad y mortalidad por CG, con el fin de aplicarlos a otras regiones del país.

MATERIALES Y MÉTODOS

Población de estudio. Durante 18 meses se colectaron los casos de CG que se presentaron en el Hospital de Caldas de la ciudad de Manizales. Todos los participantes conocieron *a priori* los objetivos de esta investigación y se los motivó a participar en ella. Inicialmente había 75 pacientes con diagnóstico clínico-endoscópico de CG; 4 de ellos no aceptaron participar y 6 no reunieron los criterios de inclusión (o bien porque no se confirmó la neoplasia por estudios de anatomía patológica o porque tenían antecedentes familiares de cáncer). Los 65 pacientes restantes leyeron y firmaron un protocolo de consentimiento informado, el cual estaba aprobado por el Comité de Bioética de la Universidad de Caldas, y reunieron los siguientes criterios de inclusión: a) afectados por neoplasia gástrica primaria diagnosticada histopatológicamente, b) procedentes de la misma región, c) sin otra neoplasia concomitante, d) sin historia de otras enfermedades crónicas inflamatorias tales como asma, artritis, úlcera gástrica o enfermedades sistémicas. Los casos fueron pareados con 65 controles, pertenecientes a la misma comunidad, sin historia personal ni familiar de cáncer, ni de enfermedades crónicas inflamatorias ni sistémicas.

Se aplicó un cuestionario estandarizado a los pacientes y controles, para registrar los datos personales, variables demográficas e información acerca de la historia clínica, hábitos y estilos de vida en relación con el tabaquismo, consumo de licor y estrato socioeconómico. La mayor parte de los estudios de anatomía patológica se hicieron en el Instituto Caldense de Patología, y los tumores encontrados se clasificaron de acuerdo con Lauren en dos grandes tipos: cáncer gástrico de tipo intestinal (CGI) y cáncer gástrico de tipo difuso (GCD).

En cuanto al consumo de cigarrillo, la población se estratificó en cuatro categorías (10): no fumadores, fumadores ocasionales

(1-20 paq/año), fumadores moderados (21-40 paq/año) y fumadores excesivos (> 40 paq/año) (tabla 1). A los exfumadores (aquellos que habían dejado el hábito dos años antes de este estudio) se consideraron no fumadores. También se clasificaron en cuatro categorías de acuerdo con el consumo de licor: nulos (0 gr/día), poco, (1-19 gr/día), moderados (20-39 gr/día) y excesivos (40 ó + gr/día); 10 ml equivalen a 7.9 gr de etanol puro (9). Para el estrato socioeconómico, la clasificación se basó en las seis categorías que aplica para el cobro de servicios públicos la Oficina de Planeación Nacional Seccional Manizales. Luego se reagruparon en tres niveles socioeconómicos, teniendo en cuenta tres zonas muy definidas en la ciudad, así: nivel bajo (estrato 1); nivel medio, vecindario compartido por estratos 2 y 3; y nivel alto, por los estratos 4, 5 y 6.

Genotipificación de P53. De cada participante se obtuvo una muestra de sangre periférica con EDTA, de la cual se extrajo el ADN por el método de salting out (11) y se realizó la amplificación en un volumen final de 50 µl entre los que se encuentran: 5.0 µl de buffer; 200 mM de cada dNTP; 2.0 mM de MgCl₂, 10 pmM de cada primers (5' TTG CCG TCC CAA GCA ATG GAT GA 3' y 5' TCT GGG AAG GGA CAG AAG ATG AC 3'); 1 U de Taq polimerasa (Promega ®) y 100 ng de ADN genómico (7). El perfil de PCR consistió en una denaturalización inicial a 94° durante 5 minutos; seguido por 35 ciclos, así: denaturalización a 94°C-30 segundos, alineamiento a 55°C-1'; extensión a 72°C -1' y una extensión final de 72°C-10 minutos. Los productos de la amplificación se resolvieron en una electroforesis en gel de agarosa al 2% peso/volumen, teñida con bromuro de etidio; corrida en TBE 1X a 85 voltios durante 40 minutos. Después se llevó el gel al transiluminador y se verificó el amplificado.

Restricción. Los productos de amplificación se someten a digestión, bajo las siguientes condiciones: 10 µl de amplificado, más 2 unidades de enzima de restricción *BstU1* a 60°C

durante 16 horas. Los fragmentos son luego corridos en electroforesis con geles de agarosa al 2% y teñidos con bromuro de etidio. Después se lleva el gel al transiluminador y se registra con rollo polaroid 669. El alelo *pro* no es clivado por la enzima *BstU1* a nivel del codon 72 y se observa en la electroforesis una sola banda de 199 pb; el alelo *arg* sí se cliva y da dos bandas, una de 113 y otra de 86 pb; los heterocigotos presentan las tres bandas (199, 113 y 86 pb) (7) (figura 1).

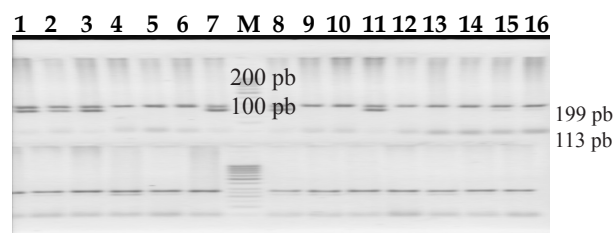


Figura 1. Gel de electroforesis en el que se observan los productos de restricción del polimorfismo en el codon 72 del gen p53; 1, 2, 3, 7, 8, 11, 15 y 16 son heterocigotos (Arg/pro) y presentan tres bandas, una de 199 pb, otra de 113 pb y una pequeña de 86 pb que no se observa. Los números 4, 5, 6, 9, 10, 12, 13 y 14 son *pro/pro*.

Análisis estadísticos. Para evaluar la homogeneidad de la muestra con respecto a la variable edad, se hicieron las pruebas de normalidad de Kolmogorov-Smimov, de Shapiro-Wilk. Una vez verificada la homogeneidad se aplicó una prueba t para igualdad de medias y la prueba de Mantel-Haenszel para corroborar la homogeneidad. Se aplicaron pruebas de Chi cuadrado para evaluar asociación, se calcularon paso a paso los OR mediante modelos de regresión logística y se fueron ajustando e incluyendo en el modelo las variables que resultaron significativas. Se estimó la asociación con un intervalo de confianza al 95%. El valor de p se considera significativo si su valor es menor de 0.05. Las iteraciones también fueron realizadas mediante regresión logística en plataforma de SPSS 12.0.

RESULTADOS

La tabla 1 muestra el subtipo tumoral de CG encontrado, la distribución por grupos de edad, sexo, consumo de tabaco, consumo de licor y estrato socioeconómico, de casos y controles. El cáncer gástrico tipo intestinal (CGI) (75.4%) triplicó el cáncer gástrico de tipo difuso (CGD) (24.6%). El promedio de edad de casos fue de 53.6 años, tanto para mujeres como para hombres, y con una mayor frecuencia de afectados en el grupo de más de 60 años (50.6%) (tabla 1). No se encontró asociación significativa con ninguno de los géneros (tabla 1), y la incidencia de CG tuvo una relación hombre-mujer de 1.7/1.

Se encontró asociación significativa entre el consumo de tabaco y el riesgo de desarrollar CG (OR=2.1, IC95%, 1.06-4.4, p=0.035). Este riesgo se hace evidente a mayor consumo (OR=5.6, IC95%, 1.8-17.6, p=0.002). No hubo diferencias significativas entre los casos y controles al evaluar las frecuencias de los consumidores de licor, p=0.477 (tabla 1).

Se tomó como punto de referencia el estrato socioeconómico alto (estratos cuatro, cinco y seis), que en este caso se considera como protectores por tener menor frecuencia de afectados; se observó una asociación significativa entre los estratos socioeconómicos bajo y medio con el riesgo a CG; p=0.000 (tabla 1).

La distribución de los polimorfismos del codon 72 del gen p53 se observa en la tabla 2. Se toma como referencia el polimorfismo Arg/Arg, considerado como el de actividad reparadora normal y los que presentan el alelo Pro son considerados polimorfismos con riesgo de desarrollar CG, por ser menos eficaces en los procesos reparadores del genoma. Dada la baja frecuencia del subtipo tumoral CGD, se consideraron los datos globales de CG para el análisis estadístico, en los que se incluyen ambos subtipos tumorales. De igual manera, se hizo un análisis estadístico conjunto de los portadores del alelo Pro, ya sea en estado homocigoto o

heterocigoto (Arg/Pro+ Pro/Pro) (tabla 2); pero en ninguno de los casos se detectó asociación con CG.

Se exploró la posible asociación entre el polimorfismo del codon p72 del gen p53 y el tabaquismo, con el riesgo a CG. De igual forma se hizo con el estrato socioeconómico; pero solo se insinúa un pequeño incremento de riesgo a CG con el estrato socioeconómico (tabla 3). También mediante regresión logística se analizaron las variables sociodemográficas estudiadas que dieron asociación con CG (tabaquismo y estrato socioeconómico) y se calculó el OR crudo y ajustados (tabla 4); y el riesgo a CG se mantuvo prácticamente en el mismo valor, lo que nos indica que no se evidencia iteración.

DISCUSIÓN

Al igual que en las áreas de alto riesgo, en esta población predomina el cáncer gástrico de tipo intestinal (CGI) (75.4%), y afecta más a los hombres, sobre todo de edad avanzada. La edad promedio mundial de los afectados por CG oscila entre 61 y 70 años (12;13); y en este estudio también se encontró más afectado el grupo etáreo de más de 61 años (33.8%). Pero preocupa que más de la mitad de los casos está entre los 41 y 60 años (53.8%), lo que sugiere que esta población es vulnerable, o bien por susceptibilidad genética o por exposición a factores de riesgo desde edades tempranas, o una combinación de ambos, que promueven el desarrollo del CG y convierten el departamento de Caldas en una zona epidémica para el mismo.

El promedio de edad de los afectados por CG fue de 53.6 años con una desviación de 11.4 (tabla 1), y no se hallaron diferencias significativas con un estudio realizado en el departamento de Antioquia (14). Aunque la edad es un factor de riesgo general para el desarrollo de neoplasias, en este estudio no se encontró asociación entre

Tabla 1. Distribución de las variables sociodemográficas en controles y casos de CG

VARIABLES	Controles n (%)	Tumor Intestinal n (%)	Tumor Difuso n (%)	Total-CG n(%)	OR IC(95%)	p
Grupos de edad						
< 41 años	8 (12.3)	4 (8.2)	4 (25.0)	8 (12.3)	1.0	
41-50 años	21 (32.3)	17 (34.7)	4 (25.0)	21 (32.3)	1.0(0.3-3.1)	1.0
51-60 años	14 (21.5)	10 (20.4)	4 (25.0)	14 (21.5)	1.0(0.3-3.4)	1.0
61 y más	22 (33.8)	18 (36.7)	4 (25.0)	22(33.8)	1.0(0.3-3.1)	1.0
TOTAL	65	49 (75.4)	16 (24.6)	65		0.76
Promedio edad	54.3±12.1	54.0± 1.5	52.1±11.2	53.6±11.4		
Género						
Femenino	21 (32.3)	19 (38.8)	5(31.3)	24 (36.9)		
Masculino	44 (67.7)	30 (61.2)	11 (68.8)	41 (63.1)		
TOTAL	65	49	16	65		0.58
Tabaquismo						
No fuman	34(52.3)	17 (34.7)	5 (31.3)	22 (33.8)	1.0	
Poco (1-20 p/año)	6 (9.2)	7 (14.3)	1 (6.3)	8 (12.3)	2.1(0.6-6.7)	0.22
Moderado(21-40)	20 (30.8)	10 (20.4)	7 (43.8)	17 (26.2)	1.3(0.6-3.0)	0.52
Excesivo (>40)	5 (7.7)	15 (30.6)	3 (18.8)	18 (27.7)	5.6(1.8-17.6)	0.002
Total que fuman	31(47.7)	32(65.3)	11(68.7)	43(66.2)	2.1(1.06-4.4)	0.035
Consumo de licor						
No consumen licor	29 (44.6)	20 (40.8)	5 (31.3)	25 (38.5)	1.0	
Poco	26 (40.0)	23(46.9)	8 (50.0)	31 (47.7)	1.4(0.7-2.9)	0.394
Moderado	8 (12.3)	5 (10.2)	2(12.5)	7 (10.8)	1.01(0.3-3.2)	0.980
Excesivo	2 (3.1)	1 (2.0)	1 (6.3)	2 (3.1)	1.16(0.15-8.84)	0.886
Total consumidores	36(55.4)	29(59.2)	11(68.8)	40(61.5)	1.3(0.6-2.6)	0.477
Estrato						
Alto (4, 5 y 6)	28(43.1)	5(10.2)	0	5(7.7)	1.0	
Medio (2 y 3)	35(53.8)	8(16.3)	4(25.0)	48(73.8)	7.6(2.7-21.87)	0.000
Bajo (1)	2(3.1)	36(73.5)	12(75.0)	12(18.5)	33.6(5.7-198.0)	0.000
TOTAL	65	49	16	65		0.001

Tabla 2: Genotipos de P53 y su distribución en Controles y Casos de CG

P53	Controles	Tumor Intestinal	Tumor Difuso	Ca. Gástrico Total	OR/IC(95%)	P
<i>Polimorfismos</i>						
<i>Arg/Arg</i>	32(49.2)	25(51.0)	6(37.5)	31(47.7)	1.0	
<i>Arg/Pro</i>	27(41.5)	17(34.7)	8(50.0)	25(38.5)	0.96/(0.45-1.99)	0.904
<i>Pro/Pro</i>	6(9.2)	7(14.3)	2(12.5)	9(13.8)	1.54/(0.49-4.86)	0.452
<i>Arg/Pro+ Pro/Pro</i>	33(50.7)	24(49.0)	10(62.5)	34(52.3)	1.06/(0.53-2.11)	0.861

Tabla 3. Polimorfismos codon 72 de P53, tabaquismo y estrato socioeconómico

Polimorfismo codon 72 P53		Controles n(%)	Ca. Gástrico Total n(%)	OR(IC95%)	P
	FUMAR				
<i>Arg/Arg</i>	NO	19 (29.2)	15 (23,1)	1.0	
	SI	13 (20.0)	16 (24.6)	1.6(0.57-4.22)	0.382
<i>Arg/pro+Pro/Pro</i>	NO	15 (23.1)	7 (10.8)	0.6(0.19-1.81)	0.357
	SI	18 (27.7)	27 (41.5)	1.9(0.71-4.68)	0.161
<i>Arg/Arg</i>	poco	3 (4.6)	6 (9.2)	2.5(0.54-11.8)	0.229
	moderado	10 (15.4)	4 (6.2)	0.5(0.13-1.94)	0.317
	excesivo	0			
<i>Arg/pro+Pro/Pro</i>	poco	3 (4.6)	2 (3.1)	0.8(0.12-5.72)	0.862
	moderado	10 (15.4)	13 (20.0)	1.6(0.56-4.78)	0.358
	excesivo	5 (7.7)	12 (18.5)	3.0(0.87-10.5)	0.074
	ESTRATO				
<i>Arg/Arg</i>	ALTO	13 (20.0)	2 (3.1)	1.0	
	MEDIO	17 (26.2)	23 (35.4)	8.79(1.74-44.22)	0.003
	BAJO	2 (3.1)	6 (9.2)	19.5(2.19-173.48)	0.003
<i>Arg/pro+Pro/Pro</i>	ALTO	15 (23.1)	3 (4.6)	1.3(0.18-9.02)	0.790
	MEDIO	18 (27.7)	25 (38.5)	9.0(1.80-45.04)	0.003
	BAJO	0			

Tabla 4. Fumar, estrato socioeconómico y riesgo a CG

VARIABLE	OR(IC95%)/P Crudo	OR(IC95%)/P Ajustado: género/edad/	OR(IC95%)/P Ajustado: género/edad/ /p53
Fumar	2.1(1.06-4.4)/0.035	2.4(1.14-5.00)/0.21	2.4(1.14-5.18)/0.021
Estrato	2.2(1.42-3.46)/.000	2.4(1.49-3.80)/0.000	2.4(1.49-3.79)/0.000
FumarxEstrato	1.29(0.52-3.18)/0.574	1.26(0.51-3.16)/0.609	1.27(0.51-3.17)/0.604

esta variable y el riesgo a CG ($p=0.76$). El cáncer es una patología asociada con el envejecimiento, etapa durante la cual los procesos fisiológicos no son tan eficientes y disminuyen los mecanismos de protección y reparación de la mucosa gástrica (15); y con la edad se hacen más notables los efectos nocivos de factores de riesgo ambientales o por estilos de vida desfavorables, que inciden sobre la eficacia de los procesos celulares, y a su vez van ocurriendo cambios en el genoma que ocasionan alteraciones genéticas o epigenéticas, como la hipo e hipermetilación, que eventualmente pueden participar en el desarrollo y progresión de un cáncer (16).

La incidencia de CG fue mayor en la población masculina, con una relación 1.7/1.0; pero no es una asociación estadísticamente significativa ($p=0.58$). Esta tendencia del CG a afectar más el sexo masculino se podría explicar en parte por el hecho de que los hombres están más expuestos a factores ambientales nocivos, ya sean ocupacionales o sus estilos de vida (tabaquismo, el consumo de licor, dieta), y porque poseen mayor masa corporal hepática (17). En tejidos gástricos normales femeninos se ha encontrado mayor actividad de las enzimas detoxificadoras (GSTs) y en los masculinos mayor actividad de las P450 (18), que son activadoras. Esto confiere a las mujeres mayor capacidad de eliminar tóxicos y a los hombres mayor producción de especies reactivas; pero es posible que también estén comprometidas diferencias hormonales (19).

El riesgo global de CG entre los fumadores es del orden de 1.5-1.6, comparado con los no fumadores. Se estima que el número anual de casos de CG atribuibles al humo del cigarrillo en todo el mundo es de 80.000 (11%), cifra mayor a la estimada para otros cánceres asociados al tabaquismo, como lo son el pancreático y el renal (20). En este estudio se encontró asociación entre este hábito y el riesgo a CG, (OR=2.1, IC95%:1.06-4.4, $p=0.035$); y en los mayores consumidores, más de 40 paquetes al año (21), el riesgo se incrementa debido a una mayor concentración de genotóxicos (OR=5.6, $p=0.002$) (tabla 1).

El mecanismo mediante el cual el humo del cigarrillo está implicado en el desarrollo de GC es incierto; pero se sabe que contiene más de 4700 constituyentes químicos de los cuales al menos 60 son carcinógenos, entre ellos: hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP), nitrosaminas (Ns), aminos aromáticas heterocíclicas (AAH), trazas de metales y la nicotina (22), que podrían actuar por contacto directo con la mucosa gástrica o indirectamente a través del flujo sanguíneo (23). Se tienen indicios de que algunos derivados del cigarrillo están involucrados en la carcinogénesis gástrica humana, tales como el benzo[α]pireno, aminos aromáticas, nitrosaminas, como la 4-(metilnitrosamino)-1-(3 piridil)-1 butanona (NNK), y generadores de radicales libres (24-26). La nicotina ejerce un efecto mitogénico al

activar la cascada de proteínas quinasa regulada por señales extracelulares (ERK); induce la ciclooxigenasa-2 (COX-2), que es un marcador de inflamación en tejido tumoral, y al factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) (22).

Otras evidencias moleculares de la acción del tabaquismo están dadas por el incremento de la actividad de las enzimas P450 (18), por los altos niveles de aductos en el ADN de fumadores afectados por CG (27). Los extractos de humo de cigarrillo inducen la sobreexpresión del protooncogén c-myc, y estimulan la proliferación celular (28). Además, la NNK induce aberraciones cromosómicas en ensayos *in vitro* (29), y evidencias clínicas indican que el humo de cigarrillo promueve la transición de lesiones gástricas precancerosas a lesiones cancerosas (25,30) y que el riesgo se incrementa con la intensidad y duración del hábito (23).

En el presente estudio no se encontró asociación entre el consumo de licor y el riesgo a CG ($p=0.477$) (tabla 1). No hay una evidencia consistente de que el consumo de licor afecta el riesgo de CG; posiblemente el licor sea un carcinógeno débil e intensifica el efecto de los procarcinógenos del tabaco al reducir las defensas de la mucosa gástrica y al actuar como solvente, lo que sugiere un efecto mayor del tabaco en el riesgo a esta neoplasia.

Hay asociación entre el estrato socioeconómico bajo y medio con el riesgo de desarrollar CG, $p=0.000$ (tabla 1). Al comparar los estratos medio y alto, en este último hay un efecto protector con respecto al riesgo de CG (dato no mostrado); es muy posible que en el estrato alto existan factores ambientales y estilos de vida protectores del riesgo a CG. Lo contrario pasaría en el estrato socioeconómico bajo y medio, en donde se encontró mayor incidencia de CG y especialmente del tipo intestinal (CGI) que es predominante en áreas epidémicas de alto riesgo, es más común en hombres y se ha asociado con factores de riesgo ambientales (24,31). En este

grupo poblacional se presentan más estilos de vida desfavorables, es muy común que cocinen con carbón o con leña, fumen y consuman licor; además, habitan en áreas de poca calidad ambiental, están expuestos a basuras, toxinas, contaminantes, polución en el aire, mala calidad de agua, ruido, hacinamiento, baja calidad de la vivienda, pocas facilidades de educación, ambientes inadecuados de trabajo, condiciones insalubres del vecindario. También los bajos ingresos económicos de esta población le impide acceder fácilmente a una alimentación más sana. Todo ello genera un ambiente desfavorable para la salud, y es posible que la acumulación de exposición a múltiples y subóptimas condiciones físicas, más que una exposición ambiental puntual, pueda explicar parcialmente el efecto del estrato socioeconómico sobre el gradiente de salud (32).

Polimorfismo en el codon 72 de p53 y CG. Se detectaron las tres combinaciones genotípicas posibles: *Arg/Arg*; *Arg/Pro* y *Pro/Pro*. La primera de ellas fue más frecuente y es considerada la variante normal; la segunda es la forma heterocigota, y la última variable se presentó en menor frecuencia; esta variante polimórfica es de especial interés, ya que los individuos que la presentan tienen mayor susceptibilidad a neoplasias (7). En esta población, las frecuencias del polimorfismo p53-*Pro/Pro* no difieren significativamente entre el grupo control y el grupo con CG (tabla 2). Al evaluar la presencia del alelo *Pro*, (*Arg/Pro*+*Pro/Pro*), tampoco se encontraron diferencias significativas (tabla 2). Estos hallazgos concuerdan con un meta-análisis realizado por Zhou et al. (33), en el que no hallaron asociación entre estas variables. Tampoco se encontró asociación al considerar los genotipos desfavorables y el tabaquismo (tabla 3). Se detecta una asociación leve, al evaluar el estrato socioeconómico medio. Valorando sólo el estrato medio, el riesgo a CG es de 7.6, y al considerarlo conjuntamente con el polimorfismo *Arg/Pro*+*Pro/Pro* el riesgo se incrementa a 9.0 (tabla 3); pero al realizar la regresión logística (datos no mostrados), no

da una iteración significativa entre estas dos variables. Se destaca el efecto, independiente del estrato socioeconómico bajo y medio sobre el riesgo a CG (tabla 3), por lo que es posible que en esta población el ambiente desfavorable ejerza un efecto más fuerte sobre el riesgo a CG, que el polimorfismo del codon 72 del gen p53, evidencia apoyada también en el subtipo tumoral encontrado (CGI), en cuya etiología predominan los factores ambientales.

En conclusión, los resultados encontrados sugieren que en esta población las exposiciones desde edades muy tempranas al tabaquismo y las múltiples exposiciones suóptimas encontradas en los estratos socioeconómicos bajos son un factor de riesgo para desarrollar CG; además, que el efecto modulador del polimorfismo del codon 72 del gen p52 no evidencia una asociación significativa con el riesgo a CG. Sin embargo, debe hacerse un estudio más exhaustivo con mayor muestra poblacional para confirmar los resultados obtenidos e incluir otros factores genéticos y ambientales que puedan estar comprometidos con el riesgo a CG en esta población. Toda esa información podría ser muy útil para establecer el impacto de los factores de riesgo sobre el CG e identificar los modificadores genéticos de riesgo. Por lo que al identificar poblaciones de riesgo sería muy útil, para diseñar estrategias preventivas, que conduzcan a disminuir la morbi-mortalidad causada por esta patología.

Las posibles limitaciones encontradas en este estudio son: 1. El tamaño de la muestra poblacional es pequeña y las frecuencias obtenidas en cada combinación de las

variables en estudio no alcanzan a tener un poder estadístico confiable, lo que se insinúa al obtener intervalos de confianza muy amplios. 2. La presencia de factores confundentes no estudiados, que pueden influir en el riesgo a CG, como la infección por *Helicobacter pylori*, la presencia de otros compuestos potencialmente carcinógenos en la dieta, que al ser metabolizados generan genotóxicos (carnes ahumadas, pescado seco), el consumo de sal y de anticancerígenos. 3. Otros polimorfismos genéticos no estudiados y que hayan interferido en los resultados. 4. Los niveles reales de exposición no son muy precisos y puede existir un sesgo en la información, es posible que al encuestar las personas afectadas magnifiquen o minimicen el grado de exposición a los hábitos consultados, lo que incide en los cálculos de los riesgos.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue apoyado por la Universidad de Caldas y la Universidad Autónoma de Manizales. Los autores expresan su gratitud al Hospital de Caldas, al Hospital Geriátrico "San Isidro" de Manizales, al Instituto Caldense de Patología, al Instituto Oncológico de Caldas "ION". A los pacientes, residentes del Albergue del Hospital Geriátrico de Manizales, y a los donantes de la sangre analizada en el presente estudio. Y un agradecimiento especial a las Doctoras. Leonor Gutiérrez y Myriam Delgado, por su apoyo incondicional en la toma de muestras y manejo de la base de datos, y al Dr. Jaime Alberto Delrio por sus aportes estadísticos.

REFERENCIAS

1. Archie V, Kauh J, Jones DV, Cruz V, Karpeh MS, Thomas CR. Gastric cancer: Standards for the 21st century. *Crit Rev Oncol Hematol* 2006; 57:123-31.
2. Jemal A, Thomas A, Murray T, Thun M. Cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin* 2006; 52:23-47.
3. Murillo MR, Piñeros PM, Hernández SG. Atlas de Mortalidad por Cáncer en Colombia 2003. Imprenta Nacional de Colombia; 2003.
4. Hesketh, R. The Oncogene and Tumour Suppressor gen. 2a. edic. Academic Press- London. Great Britain; 1997.
5. Shepherd T, Tolbert D, Benedetti J, MacDonald J, Stermmmermann G, Weist J, et al. Alterations in exon 4 of the p53 gene in gastric carcinoma. *Gastroenterology* 2000; 118:1039-44.
6. Shu KX, Li B, Wu LX. The p53 network: p53 and its downstream genes. *Colloids Surf B Biointerfaces* 2007; 55:10-18.
7. Fan R, Wu MT, Miller D, Wain JC, Kelsey KT, Wiencke JK, et al. The p53 codon 72 polymorphism and lung cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2000; 10:1037-42.
8. Torres MM, Acosta CP, Sicard DM, Groot, de Restrepo H. Genetic susceptibility and risk of gastric cancer in a human population of Cauca, Colombia. *Biomédica* 2004; 24:153-62.
9. Lindblad M, Rodriguez LA, Lagergren J. Body mass, tobacco and alcohol and risk of esophageal, gastric cardia, and gastric non-cardia adenocarcinoma among men and women in a nested case-control study. *Cancer Causes Control* 2005; 3:285-94.
10. Setiawan VW, Zhang ZF, Yu GP, Li YL, Lu ML, Tsai CJ, et al. *GSTT1* and *GSTM1* Null Genotypes and the risk of gastric cancer: a case-control study in a Chinese population. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2000; 9:73-80.
11. Blin N, Stafford DW. A general method for isolation of high molecular weight DNA from eukaryotes. *Nuclei Acids Res*. 1976; 3:2303-08.
12. Ye W, Ekstrom AM, Hansson LE, Bergstrom R, Nyren O. Tobacco, alcohol and the risk of gastric cancer by sub-site and histologic type. *Int J. Cancer* 1999; 83:223-229.
13. Plummer M, Franceschi S, Muñoz N. Epidemiology of gastric cancer. *IARC Sci Publ*. 2004; 157:311-26.
14. Peláez A, Ramírez JG, Ruíz A. Características y prevalencia de neoplasias malignas del tracto gastrointestinal en el departamento de Antioquia, Segundo semestre de 1996. *CES MEDICINA* 1998; 12:37-43.
15. Newton JL. Changes in upper gastrointestinal physiology with age. *Mech Ageing Dev*. 2004; 125:867-870.
16. Suzuki K, Suzuki I, Leodolter A, Alonso S, Horiuchi S, Yamashita K, et al. Global DNA demethylation in gastrointestinal cancer is age dependent and precedes genomic damage. *Cancer Cell* 2006; 9:199-207.
17. Marchand LL, Wilkinson GR, Wilkens LR. Genetic and dietary predictors of CYP2E1 activity: a phenotyping study in Hawaii Japanese using chlorzoxazone. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 1999; 8:495-500.

18. Kim HS, Kwack SJ, Lee BM. Alteration of cytochrome p-450 and glutathione s-transferase activity in normal and malignant human stomach. *Journal of toxicology and environmental health, part a.* 2005; 68:1611-20.
19. Maguire A, Porta M, Sanz JM, Ruano I, Malats N, Piñol JL. Sex as a pronostic factor in gastric cancer. *European Journal of Cancer* 1996; 32A:1303-09.
20. Tredaniel J, Boffetta P, Buiatti E, Saracci R, Hirsch A. Tobacco smoking and gastric cancer: review and meta analysis. *Int J Cancer* 1997; 72:565-73.
21. Katoh T, Nagata N, Kuroda Y, Itoh H, Kawahara A, Kuroki N, et al. Glutathione S-transferase M1 (GSTM1) and T1 (GSTT1) genetic polymorphism and susceptibility to gastric and colorectal adenocarcinoma. *Carcinogenesis* 1996; 17:1855-59.
22. Shin VY, Cho CH. Nicotine and gastric cancer. *Alcohol* 2005; 35:259-64.
23. González CA, Pera G, Agudo A, Palli D, Krogh V, Vineis P, et al. Smoking and the risk of gastric cancer in the European Prospective Investigation Into Cancer and Nutrition (EPIC). *Int J Cancer* 2003; 107:629-34.
24. Correa P. A human model of gastric carcinogenesis. *Cancer Res* 1988; 48:3554-60.
25. Mirvish SS. Role of N-nitroso compounds (NOC) and N-nitrosation in etiology of gastric, esophageal, nasopharyngeal and bladder cancer and contribution to cancer of known exposures to NOC. *Cancer Lett* 1995; 93:17-48.
26. Schoket B, Phillips DH, Kostic S, Vincze I. Smoking-associated bulky DNA adducts in bronchial tissue related to CYP1A1 MspI and GSTM1 genotypes in lung patients. *Carcinogenesis* 1998; 19:841-46.
27. Iwata F, Zhang XY, Leung FW. Aggravation of gastric mucosal lesions in rat stomach by tobacco cigarette smoke. *Digest Dis Sci.* 1995; 40:1118-24.
28. Shin VY, Wang HY, Liu ES, Koo MN, Cho CH. Differential effects of cigarette smoke extracts on cell proliferation in gastric and colon cells. *Cancer Invest.* 2003; 2:200-07.
29. Salam SA, Abdel SZ, Sierra CH, Hamada FA, Au WW. Role of polymorphic GSTM1 and GSTT1 genotypes on NNK-induced genotoxicity. *Pharmacogenetics* 1999; 9:735-43.
30. Kneller RW, You WC, Chang YS, Liu WD, Zhang L, Zhao L, et al. Cigarette smoking and other risk factors for progression of precancerous stomach lesions. *J Nat Cancer Inst.* 1992; 84:1261-66.
31. Sanz JM, Ruiz JM, Rodríguez L, Alfaro J, Almajano C, Cuevas M, et al. Importancia de la clasificación de Laurén del cáncer gástrico. Revisión de una serie de 295 casos. *Patología* 1989; 22:156-61.
32. Evans GW, Kantrowitz E. Socioeconomic status and health: the potential role of environmental risk exposure. *Annu Rev Public Health* 2002; 23:303-31.
33. Zhou Y, Li N, Zhuang W, Liu GJ, Wu TX, Yao X, et al. P53 codon 72 polymorphism and gastric cancer: A meta-analysis of the literature. *Int J Cancer.* 2007 Jun 1; [Epub ahead of print].