

Polimorfismos genéticos de interleucinas IL-1B-511, IL-1RN, IL-10, factor de necrosis tumoral α -308 e infección por *Helicobacter pylori* CagA positivo en cáncer gástrico y úlcera duodenal en diferentes poblaciones en Colombia

Genetic Polymorphisms of IL-1B-511, IL-1RN, IL-10 Interleukins, Tumor Necrosis α -308 and Positive *Helicobacter pylori* CagA Infection in Gastric Cancer and Duodenal Ulcer in Different Populations in Colombia

Teresa Martínez¹, Gustavo Hernández¹, María M. Bravo², Esperanza Trujillo², Andrés Quiroga², Juan C. Robayo³, Jesús Pérez⁴, Juan C. Bravo⁵, Margarita Camorlinga⁶

1 Grupo de Investigación Epidemiológica del Cáncer, Instituto Nacional de Cancerología, Bogotá D.C., Colombia

2 Grupo de Biología del Cáncer, Instituto Nacional de Cancerología, Bogotá D.C., Colombia

3 Departamento de Gastroenterología, Fundación Santa Fe, Bogotá D. C., Colombia

4 Grupo de investigación, Clínica General del Norte, Barranquilla, Colombia

5 Departamento de Patología, Fundación Valle del Lili, Cali, Valle, Colombia

6 Hospital de Pediatría CMN Siglo XXI, Instituto Mexicano de Seguros Sociales, Ciudad de México, México

Resumen

Objetivo: Determinar la asociación entre los polimorfismos IL-1B-511, IL-1RN, TNF- α -308, IL-10-819 e IL-101082 y la infección por *Helicobacter pylori* CagA positivo en un grupo de pacientes con cáncer gástrico y úlcera duodenal en diferentes poblaciones en Colombia. **Métodos:** Estudio de casos y controles con 341 pacientes: con gastritis no atrófica, 194; con cáncer gástrico, 58; úlcera duodenal con lesiones preneoplásicas, 54; y con úlcera duodenal, 35. La genotipificación de los polimorfismos se hizo por discriminación alélica usando PCR en tiempo real, y la del IL-1RN, por PCR convencional y electroforesis en agarosa. La infección por *Helicobacter pylori* CagA se determinó mediante ELISA. Se utilizó la regresión logística en el análisis estadístico. **Resultados:** Ser portador del genotipo IL-1B-511TT (OR=4,69; IC 95% 1,22-18,09) y tener una infección por *Helicobacter pylori* CagA positivo (OR=4,43; IC 95% 1,72-11,4) se asociaron a cáncer gástrico. Tener una infección por *Helicobacter pylori* CagA positivo (OR=4,39; IC95% 1,82-10,59) se asoció a la presencia de úlcera duodenal con lesiones preneoplásicas, y ser portador del genotipo IL-1B-511CT se asoció a úlcera duodenal (OR=0,30; IC 95% 0,10-0,91). **Conclusión:** Los resultados sugieren que la respuesta pro-inflamatoria y la genética virulenta de la bacteria son factores relacionados con los diferentes desenlaces ocasionados por la infección por *Helicobacter pylori* en la población estudiada; así, el polimorfismo IL-1B-511 es un factor relacionado con cáncer gástrico y úlcera duodenal, y la infección por *Helicobacter pylori* CagA positivo es un factor asociado a cáncer gástrico y úlcera duodenal con lesiones preneoplásicas.

Palabras clave: Interleucinas 1B, 10, factor de necrosis tumoral α , *Helicobacter pylori*, proteína cagA, neoplasias de estomago, úlcera duodenal.

Correspondencia:

Teresa Martínez P. Grupo de Investigación Epidemiológica, Instituto Nacional de Cancerología. Av. 1ª No. 9-85 Bogotá, Colombia. Teléfono: 5930310, ext. 4206.

Correo electrónico: tmartinez@cancer.gov.co

Fecha de recepción: 7 de marzo del 2011. Fecha de aprobación: 5 de julio del 2011

Abstract

Objective: To determine the association between the IL-1B-511, IL-1RN, TNF- α -308, IL-10-819 and IL-101082 polymorphisms and positive *Helicobacter pylori* CagA infection in a group of patients with gastric cancer and duodenal ulcer in different populations in Colombia. **Methods:** A case-control study was performed on 341 patients: those with non-atrophic gastritis, 194; with gastric cancer, 58; duodenal ulcer with preneoplastic lesion, 54; and with duodenal ulcer, 35. The genotyping of polymorphisms was done with allelic discrimination using PCR in real time, and that for IL-1RN with conventional PCR and agarose electrophoresis. *Helicobacter pylori* CagA infection was ascertained with ELISA. Logistic regression was used in statistical analysis. **Results:** Being a carrier of genotype IL-1B-511TT (OR=4.69; CI 95% 1.22-18.09) and being positive for *Helicobacter pylori* CagA infection (OR=4.43; CI 95% 1.72-11.4) are associated with gastric cancer. Positive *Helicobacter pylori* CagA infection (OR=4.39; CI 95% 1.82-10.59) is associated with the presence of duodenal ulcer with preneoplastic lesions, being a carrier of genotype IL-1B-511CT is associated with duodenal ulcer (OR=0.30; CI 95% 0.10-0.91). **Conclusion:** The results suggest that pro-inflammatory response and virulent bacterial genetics are factors related to the different outcomes brought about by *Helicobacter pylori* infection in the population studied; that is, the IL-1B-511 polymorphism is a factor related to gastric cancer and duodenal ulcer, and positive *Helicobacter pylori* CagA infection is a factor associated with gastric cancer and duodenal ulcer with preneoplastic lesions.

Key words: Interleukins 1B, 10, tumor necrosis factor-alpha, *Helicobacter pylori*, cagA protein, stomach neoplasm, duodenal ulcer.

Introducción

El cáncer gástrico representa la segunda causa de muerte por cáncer en el mundo, con 700.000 muertes por año (1), no obstante la progresiva disminución en la tasa de incidencia observada en casi todos los países durante las 6 últimas décadas. En Colombia el cáncer gástrico fue la primera causa de muerte por cáncer en 2006, con 4.538 casos, y, al igual que la tendencia mundial, ha presentado una disminución en su incidencia (2,3).

La infección por el *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) induce una respuesta inflamatoria mixta en la mucosa gástrica, caracterizada por la infiltración de linfocitos B y T, células plasmáticas, polimorfonucleares y macrófagos (4). Las cepas de *H. pylori* cagA positivas estimulan mayor migración de polimorfonucleares (4). Las células inflamatorias infiltradas modulan la respuesta del huésped para eliminar la infección, y su activación se caracteriza por la producción de citocinas proinflamatorias (IL-8, IL-6, IL-1 β , factor de necrosis tumoral α (Tumor Necrosis Factor- α [TNF- α]), interferón gamma (IFN- γ), IL-2, IL-2R) (5,6). Una subclase de linfocitos T, los Th3, influyen en el resultado de la infección por *H. pylori* reduciendo el grado de inflamación a través de la producción de la citocina antiinflamatoria IL-10 (7). La cantidad de citocinas producidas modulan el tipo y la severidad de la inflamación (8,9).

La respuesta inflamatoria en la mucosa gástrica inducida por la infección por *H. pylori* causa tres al-

teraciones histológicas principales: gastritis crónica simple; úlcera duodenal, en el 15% de los sujetos infectados (10); y cáncer gástrico, en el 1% (11). En cada una de estas alteraciones la respuesta inflamatoria individual es regulada por citocinas proinflamatorias y antiinflamatorias que contribuyen al resultado clínico final.

La variación amplia de la incidencia de cáncer gástrico en el mundo puede ser causada por diferencias en la susceptibilidad genética, la virulencia del *H. pylori* y factores ambientales. El efecto biológico de los polimorfismos genéticos IL-1B e IL-1RN muestra resultados controversiales, asociaciones y no asociaciones, entre poblaciones caucásicas y asiáticas en cáncer gástrico (12-14), al igual que para úlcera duodenal (8,15,16); se presentan resultados similares para los estudios de los polimorfismos TNF- α -308 (17-19) e IL-10 (20-23).

En Colombia son pocos los estudios que han analizado la susceptibilidad genética al cáncer gástrico, como la prevalencia de IL-1B en enfermedades gástricas benignas y malignas (24), y la asociación de TNF- α -308 con cáncer gástrico (25). Otros polimorfismos pro-inflamatorios y antiinflamatorios relacionados con cáncer gástrico y úlcera duodenal no se han evaluado; igualmente, no hay reportes en la literatura indexada que muestren la asociación entre tener anticuerpos IgG anticagA de *H. pylori* y el riesgo de cáncer gástrico o úlcera duodenal. El presente estudio tiene como objetivo determinar la asociación entre los polimorfismos IL-1B-511, IL-1RN, TNF- α -308, IL-10-819 e IL-

10-1082 y tener una infección por *H. pylori* cagA positivo con cáncer gástrico y úlcera duodenal en diferentes poblaciones en Colombia.

Métodos

La población de este trabajo es parte del estudio "*Helicobacter pylori*: prevalencia internacional, úlcera duodenal y neoplasia gástrica". Se seleccionó a pacientes de 30 y más años de edad, con sintomatología gástrica, a quienes se les realizó un examen de endoscopia de vías digestivas altas, y procedentes de las ciudades de Tunja y Bogotá, ubicadas en la zona de riesgo alto para cáncer gástrico, y de las ciudades de Barranquilla, Santa Marta y Cartagena, ubicadas en la zona de riesgo bajo para cáncer gástrico.

Los criterios de exclusión fueron: tener úlcera gástrica, várices esofágicas u otras condiciones que dificultaran el procedimiento de endoscopia; también, enfermedades crónicas severas, incluyendo otros tipos de cáncer diferentes del adenocarcinoma gástrico.

De los 353 pacientes que firmaron el consentimiento informado se excluyó a 12 (3,4%): dos, por linfomas gástricos; dos, por proceder de otras zonas de riesgo para cáncer gástrico; cinco, porque no contestaron la encuesta; y tres, porque presentaron úlcera gástrica. Se estudió a 341 pacientes; se definió como controles a 194 pacientes con diagnóstico histológico de gastritis crónica superficial, gastritis antral difusa y normal; 58 pacientes presentaron cáncer gástrico y los 89 restantes, úlcera duodenal.

El ingreso de los pacientes al estudio se hizo de forma consecutiva de febrero del 2000 a julio del 2008. Con posterioridad a la firma del consentimiento informado los pacientes contestaron una encuesta de factores demográficos, estilos de vida y consumo de alimentos; luego se les tomó una muestra de 10 ml de sangre, y, finalmente, se les realizó el examen de endoscopia con toma de biopsias gástricas. El estudio fue aprobado por el Comité de Ética e Investigaciones del Instituto Nacional de Cancerología (INC).

Para el diagnóstico histológico se tomaron 6 biopsias gástricas: dos, en antro; una, en la cisura Angularis; una, en la curvatura mayor; y dos, en el cuerpo. Las biopsias se fijaron en formalina neutra

al 10% con fosfatos, para su inclusión en parafina, y se realizaron cortes histológicos a 5 micras. Las biopsias fueron teñidas con PAS-azul alciano para los casos de metaplasia intestinal. La clasificación de la gastritis se hizo con base en la escala visual análoga propuesta por el Sistema Actualizado de Sidney (26): gastritis no atrófica (gastritis crónica superficial y gastritis antral difusa) y gastritis multifocal atrófica (gastritis crónica atrófica sin metaplasia y gastritis crónica atrófica con metaplasia). El diagnóstico de cáncer siguió la clasificación histopatológica de Lauren (27), tipos: intestinal, difuso y mixto. La úlcera duodenal fue definida como la presencia de una lesión activa en el duodeno detectada en el examen de endoscopia de vías digestivas altas.

Determinación de los polimorfismos IL-1B-511, IL-1RN, TNF- α , IL-10-819 e IL-10-1082

La genotipificación de los polimorfismos de los genes IL-1B-511, TNF- α -308, IL-10-819 e IL-10-1082 se realizó a partir de ADN genómico extraído de las biopsias del antro gástrico (28). Para la genotipificación con PCR en tiempo real se utilizaron iniciadores directo (F) y reverso (R), y sondas marcadas con fluorocromos TET y FAM, según lo reportado por Johnson et al. (29), que se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Combinación de sonda e iniciadores empleados para determinar los polimorfismos por discriminación alélica en tiempo real

Citocina	Secuencia del iniciador y sonda (5'3')
IL-1B-511C/T	F-CAGAGGCTCTGCAATTGACA R-GGTCTCTACCTGGGTGCTGTC Sonda-C 5'-FAM- AGAGCTCCCGAGGC -3'BHQ -1 Sonda-T 5'-TET- AGCTCTGAGGCAGA -3'BHQ -2
TNF-α-308G/A	F-CCCCAAAAGAAATGGAGGC R-TCTTCTGGGCCACTGACTGAT Sonda-G 5'-FAM -TGAGGGGCATGAGGACGGG -3'BHQ -1 Sonda-A 5'-TET -AGGGGCATGGGACGG -3'BHQ -2
IL-10-819C/T	F-GAGGAAACCAATTCTCAGTTAGCA R-TTATAGTGAGCAACTGAGGCACG Sonda-C -5'-FAM-AGGTGATGTAACATCT-3'BHQ-1 Sonda-T 5'-TET-AGGTGATGTAATATCT-3'BHQ-2
IL-10-1082G/A	F-ACACACAAATCCAAGACAACAT R-CTGGATAGGAGTCCCTTACTTT Sonda-A 5'-FAM-TCCCCCTCCCAAGA-3'BHQ-1 Sonda-G 5'-TET-TCCCCCTCCCAAG-3'BHQ-2

La genotificación se realizó en reacciones de 20 μ l, con 40 ng de ADN genómico, 300 nM de cada iniciador, 250 nM de cada sonda, 10 μ l de PCR master mix 2X kit DyNamo Probe qPCR (Finnzymes). La amplificación se realizó en un termociclador Chromo 4TM System for Real-Time PCR Detection (MJ Research). Las condiciones de ciclado para las diferentes citocinas fueron: -TNF-A-308: denaturación de 15 minutos a 95 °C, 45 ciclos de 30 segundos a 92 °C y 1 minuto a 65 °C; -IL-1B-511 e IL-10-1082: denaturación de 15 minutos a 95 °C, 45 ciclos de 30 segundos a 92 °C y 1 minuto a 60 °C, y -IL-10-819: denaturación de 15 minutos a 95 °C, 45 ciclos de 30 segundos a 92 °C y 1 minuto a 53 °C. Se utilizaron patrones homocigotos y heterocigotos de cada polimorfismo, obtenidos mediante el análisis de polimorfismo de longitud de fragmentos de longitud (29,30).

De la muestra total se identificó el 97,9% (334) de los polimorfismos IL-1B-511, TNF- α -308, IL-10-819 e IL-10-1082.

Para la genotificación del gen IL-1RN se utilizó el ADN genómico de las biopsias obtenidas del antro gástrico (28). El polimorfismo se determinó mediante amplificación por PCR y visualización del tamaño de los fragmentos amplificados en geles de agarosa, según la metodología descrita por Perri *et al.* (31). Cada reacción de PCR tenía un volumen final de reacción de 25 μ l: 5 μ l de solución de ADN obtenida a partir de cada biopsia, 5 μ l de buffer 1x de la Taq polimerasa (Tris-HCl 10 mM pH 8 KCl 50 mM), 1,25 mM de MgCl₂, 0,2 mM de la mezcla de dNTPs, 1 U de Go Taq Flexi DNA Polimerasa marca Promega, y 0,5 μ M de cada oligonucleótido (directo 5'-CTCAGCAA-CACTCCTAT-3' y reverso 5'-TCCTGGTCTGCA-GGTAA-3').

Los productos de amplificación se separaron en geles de agarosa al 2,5%, se tiñeron con bromuro de etidio (0,5 μ g/mL) y se visualizaron mediante electroforesis en un analizador de imágenes Gel Doc EQ (Bio Rad); posteriormente, la imagen del gel se analizó con el programa Quantity One 1-D, versión 4,4 (bio-Rad). Se identificó este polimorfismo en el 91,5% (312) de la muestra.

ELISA para IgA/IgG *Helicobacter pylori* e IgG anti-CagA

Se utilizó la prueba de ELISA de Camorlinga-Ponce M. *et al.* (32,33) para la detección de anticuerpos humanos IgA/IgG de *H. pylori* y de CagA de *H.*

pylori en suero. Brevemente, como antígeno para la determinación de anticuerpos IgG antiCagA, se utilizó proteína CagA recombinante a una concentración de 0,1 μ g/pozo; el suero se usó a una dilución 1:200. Enseguida, fue aplicada una dilución 1:1000 de anticuerpos monoclonales conjugados a fosfatasa alcalina. El sustrato fue una solución de p-nitrofenilfosfato en concentración de 1mg/ml, y la lectura se realizó en un lector de ELISA, a una absorbancia de 405 nm.

Todas las muestras se analizaron por duplicado; el valor final se dio por el promedio de las dos mediciones. Este mismo procedimiento se siguió para el análisis de los anticuerpos IgA/IgG de *H. pylori*. Se definieron como positivos para una infección por *H. pylori* de extracto total los valores $\geq 1,0$ U/ELISA, y para la infección por el gen cagA de *H. pylori*, los valores $\geq 1,5$ U/ELISA (32,33).

Análisis estadístico

Se evaluó el equilibrio de Hardy-Weinberg (EHW) de los polimorfismos estudiados en el grupo control con la prueba exacta de Fisher.

Se establecieron diferencias de proporciones utilizando la prueba χ^2 de diferencia para la distribución de los polimorfismos entre el grupo control y los grupos de cáncer gástrico y úlcera duodenal. Los *odds ratio* (OR) y sus intervalos de confianza del 95% (IC 95%) se obtuvieron a través de la regresión logística. Los OR se ajustaron por sexo, edad, nivel de educación, zona de riesgo de procedencia, antecedente de infección por *H. pylori* CagA, y por todos los polimorfismos simultáneamente, para ajustar por el efecto potencial de unos sobre otros; además, se hizo un ajuste adicional para cáncer gástrico por el consumo de carnes procesadas, con base en el estudio Martínez *et al.* (34). También se analizó la asociación entre los polimorfismos y el cáncer gástrico o la úlcera duodenal, a través de un análisis estratificado según el tipo de infección por *H. pylori* CagA, positivo o negativo.

Los resultados se presentan según los grupos de: cáncer gástrico, úlcera duodenal con lesiones pre-neoplásicas (gastritis crónica atrófica o metaplasia intestinal) y úlcera duodenal.

Se consideraron significativos los análisis de χ^2 con una $p \leq 0,05$; se utilizó el programa estadístico SPSS versión 18,0.

Resultados

De los 58 pacientes con cáncer gástrico, 42 tenían cáncer tipo intestinal; 12, tipo difuso; y 4, mixto. Los 89 pacientes con úlcera duodenal presentaron las siguientes características: 35, úlcera

duodenal sin cambios histológicos neoplásicos; 27, úlcera duodenal y gastritis crónica atrófica; y 27, úlcera duodenal y metaplasia intestinal. La distribución de las características de los pacientes con cáncer gástrico y úlcera duodenal se muestra en la Tabla 2.

Tabla 2. Características demográficas de los pacientes estudiados

Características		Control (n=194)	Cáncer gástrico (n=58)		Úlcera duodenal con lesión preneoplásica (n=54)		Úlcera duodenal (n=35)	
		n (%)	n (%)	p	n (%)	p	n (%)	p
Sexo	Femenino	101 (52,1)	25 (43,1)	0,23	23 (42,6)	0,21	15 (42,9)	0,31
	Masculino	93 (47,9)	33 (56,9)		31 (57,4)		20 (57,1)	
Edad (años)	30 - 39	55 (28,4)	1 (1,7)	<0,001	7 (13,0)	0,002	13 (37,1)	0,21
	40 - 49	65 (33,5)	6 (10,3)		16 (29,6)		5 (14,3)	
	50 - 59	39 (20,1)	10 (17,2)		8 (14,8)		8 (22,9)	
	60 - 69	23 (11,9)	19 (32,8)		18 (33,3)		5 (14,3)	
	≥ 70	12 (6,2)	22 (37,9)		5 (9,3)		4 (11,4)	
Nivel de educación	Ninguno	8 (4,1)	19 (32,8)	<0,001	16 (29,6)	<0,001	5 (14,3)	0,026
	Primaria	70 (36,1)	28 (48,3)		26 (48,1)		14 (40,0)	
	Secundaria	75 (38,7)	10 (17,2)		10 (18,5)		14 (40,0)	
	Universidad	41 (21,1)	1 (1,7)		2 (3,7)		2 (5,7)	
Zona de riesgo	Baja	95 (49,0)	12 (20,7)	<0,001	1 (1,9)	<0,001	6 (17,1)	<0,001
	Alta	99 (51,0)	46 (79,3)		53 (98,1)		29 (82,9)	
Uso de aspirina	No	104 (53,6)			24 (44,4)	0,26	13 (37,1)	0,07
	Sí	90 (46,4)			30 (55,6)		22 (62,9)	

Los alelos de los diferentes polimorfismos estaban en equilibrio de Hardy-Weinberg, a excepción del polimorfismo IL-1RN ($p=0,004$). El desequilibrio en este polimorfismo se debe a un aumento del homocigoto variante IL-1RNA2-A2 observado (16%) en el grupo control, en comparación con el esperado (11,9%), según la frecuencia de los alelos para el equilibrio de Hardy-Weinberg, lo cual origina una disminución del efecto en la comparación entre los casos y los controles de este polimorfismo.

La distribución de los genotipos del polimorfismo IL-1B-511 fue similar entre el grupo control y los grupos de cáncer gástrico y úlcera duodenal; la distribución de los alelos mostró que los pacientes con úlcera duodenal presentan una disminución del Alelo T, en comparación con los controles, aunque dicha disminución es limítrofe (Tabla 3). Los pacientes portadores del genotipo IL-1B-511TT presentaron una asociación positiva al cáncer, OR=4,69; IC 95% 1,22-18,09, y los portadores del genotipo IL-1B-

511CT mostraron una asociación negativa a la presencia de úlcera; no se observó ninguna asociación de este polimorfismo en los pacientes a úlcera duodenal con lesiones preneoplásicas (Tabla 4).

El genotipo TNF- α -308AA está ausente en todos los pacientes, a excepción de uno con cáncer gástrico. El grupo control presentó una mayor frecuencia del genotipo TNF- α -308GA, en comparación con los grupos de úlcera duodenal (Tabla 3). No se observó asociación entre los genotipos de TNF- α -308 y cáncer gástrico, úlcera duodenal con lesión preneoplásica o úlcera duodenal (Tabla 4).

Las distribuciones de los genotipos de IL-10-819 ($p=0,08$) y los portadores IL-10-819T ($p=0,03$) difieren entre los grupos control y úlcera duodenal (Tabla 3). El genotipo IL-10-1082AA es el más común en todos los grupos estudiados (Tabla 3). No se halló asociación entre estos dos polimorfismos y cáncer gástrico, úlcera duodenal con lesiones preneoplásicas, ni a úlcera duodenal (Tabla 4).

Tabla 3. Distribución de los genotipos y alelos de los polimorfismos IL1B-51, IL1-RN, TNF- α -308, IL-10-819 e IL-10-1082 e IgG CagA de *H. pylori* en pacientes con cáncer gástrico y úlcera duodenal

Genotipos	Control	Cáncer gástrico		Úlcera duodenal con lesión preneoplásica		Úlcera duodenal		EHW
	n (%)	n (%)	p	n (%)	p	n (%)	p	
IL-1B-511								
CC	34 (18,0)	9 (15,5)	0,13	12 (22,2)	0,73	11(31,4)	0,12	$\chi^2=1,28$ $p= 0,257$
CT	106 (56,1)	26 (44,8)		30 (55,6)		14 (40,0)		
TT	49 (25,9)	23 (39,7)		12 (22,2)		10 (28,6)		
Portador T	155 (82,0)	49 (84,5)	0,66	42 (77,8)	0,48	24 (68,6)	0,07	
Alelos								
C	210 (0,46)	44 (0,37)		54 (0,50)		36 (0,51)		
T	238 (0,53)	72 (0,62)		54 (0,50)		34 (0,49)		
IL-1RN								
L -L*	79 (46,7)	31 (54,4)	0,12	30 (55,6)	0,47	17 (53,1)	0,6	$\chi^2=8,352$ $p= 0,004$
L -A2**	63 (37,3)	23 (40,4)		18(33,3)		12 (37,5)		
A2-A2	27 (16,0)	3 (5,3)		6 (11,1)		3 (9,4)		
Portador A2	90 (53,3)	26 (45,6)	0,32	24 (44,4)	0,26	15 (46,9)	0,5	
A2 -A2 vs Portador L	27 (16,0)	3 (5,3)	0,04	6 (11,1)	0,38	3 (9,4)	0,33	
Alelos								
L	267 (0,66)	85 (0,73)		78 (0,66)		46 (0,72)		
A2	135 (0,33)	29 (0,26)		42 (0,33)		18 (0,28)		
TNFa-308								
GG	159 (84,1)	52 (89,7)	NA	50 (94,3)	0,06	31 (91,2)	0,02	$\chi^2=0,084$ $p= 0,771$
GA	30 (15,9)	5 (8,6)		3 (5,7)		3 (8,8)		
AA	0 (0,0)	1 (1,7)		0 (0,0)		0 (0,0)		
Portador A	30 (15,9)	6 (10,3)	0,3					
Alelos								
G	412 (0,92)	109 (0,94)		103 (0,97)		65 (0,95)		
A	34 (0,08)	7 (0,06)		3 (0,03)		3 (0,04)		
IL-10-819								
CC	67 (35,4)	26 (45,6)	0,32	23 (43,4)	0,56	19 (54,3)	0,08	$\chi^2=0,062$ $p= 0,803$
CT	96 (50,8)	26 (45,6)		23 (43,4)		11 (31,4)		
TT	26 (13,8)	5 (8,8)		7 (13,2)		5 (14,3)		
Portador T	122 (64,6)	31 (54,4)	0,17	30 (56,6)	0,29	16 (45,7)	0,03	
Alelos								
C	279 (0,62)	78 (0,67)		69 (0,65)		49 (0,70)		
T	169 (0,37)	36 (0,33)		37 (0,35)		21 (0,30)		
IL-10-1082								
GG	14 (7,4)	4 (7,0)	0,94	1 (1,9)	0,32	3 (8,6)	0,86	$\chi^2=0,969$ $p= 0,750$
GA	74 (39,2)	21 (36,8)		23 (43,4)		15 (42,9)		
AA	101 (53,4)	32 (56,1)		29 (54,7)		17 (48,6)		
Portador A	175 (92,6)	53 (93,0)	0,92	52 (98,1)	0,14	32 (91,4)	0,81	
Alelos								
G	123 (0,27)	29 (0,25)		25 (0,24)		21 (0,30)		
A	325 (0,72)	85 (0,75)		81 (0,76)		49 (0,70)		
IgG antiCagA <i>H pylori</i>								
Negativo	83 (47,2)	15 (27,3)	0,009	16 (30,2)	0,03	18 (51,4)	0,64	
Positivo	93 (52,8)	40 (72,7)		37 (69,8)		17 (48,6)		

EHW: Equilibrio de Hardy-Weinberg.

L-L* incluye: A1-A1, A1-A5, A4-A1.

L-A2** incluye: A2-A1, A2-A4, A2-A5.

Portador L: incluye A1-A1, A1-A4, A1-A5, A2-A1, A2-A4 y A2-A5.

p: χ^2 de diferencia.

La infección por *H. pylori* se presentó en el 93,5% de los pacientes estudiados (319); el 58,6% de los casos fueron *H. pylori* CagA positivas.

En los pacientes con cáncer gástrico y úlcera duodenal con lesiones preneoplásicas la infección por *H. pylori* CagA positivo fue mayor, en comparación con los controles ($p < 0,05$) (Tabla 3). Tener una infección por *H. pylori* CagA positivo se asoció a la presencia de cáncer gástrico y de úlcera duodenal con lesiones preneoplásicas; no se evidenció la misma asociación en los pacientes con úlcera duodenal (Tabla 4).

El análisis estratificado según el tipo de infección por *H. pylori* CagA de los polimorfismos estudiados no mostró diferencias en cuanto a la distribución de los genotipos, ni asociaciones a ninguno de los grupos analizados (datos no mostrados).

Discusión

La secreción de ácido gástrico es uno de los factores más importantes en las enfermedades gastroduodenales relacionadas con la infección por *H. pylori*: la baja cantidad de ácido gástrico se asocia a cáncer gástrico (8,9,35), y su aumento, a úlcera duodenal (8,10); factores determinantes de la cantidad de ácido gástrico son las citocinas activadas en la mucosa gástrica por la respuesta inmune a la infección por *H. pylori*. Los principales hallazgos del presente estudio se relacionan con la acción biológica de la citocina IL-1 β en cáncer gástrico y en úlcera duodenal, y con la dinámica compleja y simultánea de las enfermedades gastroduodenales benignas y malignas debidas a la acción de la genética del huésped y de la bacteria; además, se corrobora el antecedente de la infección por *H. pylori* CagA positivo como factor de riesgo para la carcinogénesis gástrica.

El gen interleucina 1B (IL-1B) codifica la citocina IL-1 β que inicia y amplifica la respuesta inflamatoria, y es un potente inhibidor de la secreción de ácido gástrico que conduce a hipoclorhidria y atrofia (8). El gen interleucina 1 antagonista del receptor, con variable número de repeticiones en tándem (IL-1RN VNTR), codifica la citocina IL-1ra, que se une al receptor del gen IL-1B para inhibir su bioactividad (36). La IL-1 β está aumentada en la mucosa gástrica de sujetos infectados por *H. pylori* y portadores de los genotipos IL-1B511TT o IL-1RNA2-A2, y, significativamente, en sujetos portadores de estos dos genotipos (9,37).

La evidencia aportada por diferentes metaanálisis ha mostrado que los genotipos IL-1B-511TT e IL-1RNA2-A2 se asocian a un incremento en el riesgo de cáncer gástrico en poblaciones caucásicas, y no en poblaciones asiáticas (12-14), lo cual indica diferencias étnicas en el efecto de este polimorfismo; en poblaciones latinoamericanas el polimorfismo IL-1B-511 no ha mostrado asociación al cáncer gástrico: Costa Rica (38,39), Brasil (40), Venezuela (41), Honduras (42), caso opuesto para otros polimorfismo del gen IL-1B en México (43) y Venezuela (41); este es el primer estudio en Latinoamérica que reporta la asociación de este polimorfismo a cáncer gástrico distal.

En el presente estudio, aunque la distribución del alelo IL-1B-511T es similar al de las poblaciones asiáticas (12), la asociación de riesgo a cáncer gástrico está acorde con estudios en poblaciones caucásicas, lo cual indica, posiblemente, la acción de otros factores de la bacteria, del medio ambiente y culturales en la etiología del cáncer gástrico en el país.

En relación con la úlcera duodenal se observa una distribución genética en contra de la hipoclorhidria —frecuencia menor del portador T, y mayor de IL-1B-511CC—. La disminución en el riesgo en portadores del genotipo IL-1B-511CT difiere de la literatura; los reportes son de un efecto protector de otro polimorfismo del gen IL-1B (44), o de no asociación (5,19,22,45). Es posible que este resultado se deba a una frecuencia menor del genotipo IL-1B-511CT en los pacientes con úlcera, en comparación con los controles, o a que los portadores de este genotipo propenderían hacia la hipoclorhidria, la inflamación, la atrofia y un pH del jugo gástrico mayor (8), que aumentaría el riesgo de cáncer gástrico, y, en contraposición, reduciría el riesgo de úlcera duodenal; ese es un argumento que estaría en el mismo orden de ideas de García-González *et al.* (44); sin embargo, se necesitan estudios que verifiquen este hallazgo.

Por otra parte, la frecuencia del alelo IL-1RNA2 en los controles del presente estudio (33,6%) es superior a las poblaciones caucásicas (17%-29%) y asiáticas (1%-9%), y similar a la población mexicana (36%-38%) (12).

El resultado de no asociación del gen IL-1RN a cáncer gástrico difiere de lo observado en las poblaciones caucásicas (12-14) y algunas latinoamericanas: Costa Rica (38,39), Brasil (40), y Venezuela

(41); y es similar a lo observado en las poblaciones asiáticas (12-14) y otras latinoamericanas: México (43,46) y Brasil (47). Este hallazgo, posiblemente, depende de la mayor frecuencia del genotipo IL-1-RNA2-A2 y del alelo IL-1RNA2 en el grupo control, lo que lleva a una disminución el efecto en los casos; también, probablemente, a diferencias étnicas, propias de la población Latinoamericana (48).

En el presente estudio los resultados de no asociación del mencionado polimorfismo con úlcera duodenal son similares a la mayoría de estudios en diferentes poblaciones (5,16,19,45,49,50), aunque

hay reportes tanto de disminución en el riesgo (8,44) como de aumento (15,51,52); esos son resultados que indicarían la presencia de otras citocinas proinflamatorias en la etiología de la úlcera duodenal diferentes de las relacionadas con cáncer gástrico. Para algunos autores la presencia de úlcera duodenal no afecta la expresión de citocinas (53); para otros, hay una disminución en la expresión de citocinas proinflamatorias en el epitelio de la mucosa del duodeno en sujetos infectados con *H. pylori*, incluida la IL-1 β , en comparación con la mucosa normal, u otros genes, en su concepto, son los que se expresarian (54).

Tabla 4. Odds ratio ajustado y su intervalo de confianza al 95% de los polimorfismo IL-1B-5, IL1RN, TNF- α -308, IL-10-819 e IL-10-1082 y anticuerpos IgG antiCagA de *H. pylori* en pacientes con cáncer gástrico y úlcera duodenal

Genotipos	Cáncer gástrico			Úlcera duodenal con lesión preneoplásica			Úlcera duodenal		
	OR*	IC 95%	p	OR**	IC 95%	p	OR**	IC 95%	p
IL-1B - 511									
CC	1,00			1,00			1,00		
CT	2,74	0,77 9,70		1,12	0,38 3,33		0,30	0,10 0,91	
TT	4,69	1,22 18,09	0,03	1,25	0,36 4,33	0,8	0,78	0,24 2,57	0,71
Portador T	2,99	0,93 9,64	0,08	1,20	0,41 3,53	0,79	0,46	0,17 1,25	0,11
IL - 1RN									
L - L*	1,00			1,00			1,00		
L - A2**	0,62	0,24 1,58		0,70	0,29 1,70		0,77	0,28 2,10	0,50
A2 - A2	0,57	0,12 2,73	0,33	1,05	0,28 3,93	0,75	0,69	0,15 3,20	
Portador A2	0,65	0,27 1,53	0,32	0,75	0,32 1,75	0,30	0,80	0,33 1,93	0,60
A2 - A2 vs. Portador L	0,82	0,19 3,54	0,69	1,04	0,26 4,16	0,60	0,90	0,23 3,61	0,89
TNFα - 308									
GG	1,00			1,00			1,00		
AG	1,40	0,40 4,90		0,27	0,05 1,28		0,56	0,13 2,40	
IL- 10-819									
CC	1,00			1,00			1,00		
CT	0,50	0,19 1,30		0,58	0,24 1,41		0,46	0,16 1,30	0,41
TT	0,20	0,03 1,16	0,22	1,06	0,25 4,42	0,21	1,08	0,24 4,92	
Portador T	0,48	0,19 1,18	0,12	0,56	0,24 1,34	0,36	0,57	0,24 1,35	0,19
IL- 10-1082									
GG	1, 00			1,00			1,00		
AG	1,17	0,19 7,15		7,95	0,63 99,68		0,86	0,15 4,85	
AA	1,70	0,28 10,27	0,40	5,47	0,44 68,15	0,94	0,86	0,15 4,97	0,94
Portador A	1,62	0,28 9,32	0,63	3,63	0,29 44,68	0,13	1,24	0,25 6,14	0,78
IgG antiCagA <i>H pylori</i>									
Negativo	1,00			1,00			1,00		
Positivo	4,43	1,72 11,41		4,39	1,82 10,59		0,92	0,36 2,37	

OR* ajustado: por sexo, edad, nivel de educación, zona de riesgo, serología CagA, todos los polimorfismos simultáneamente y carnes procesadas.

OR** ajustado: por sexo, edad, nivel de educación, zona de riesgo, serología CagA y todos los polimorfismos simultáneamente.

L-L* incluye: A1-A1, A1-A4, A1-A5.

L-A2** incluye: A2-A1, A2-A4, A2-A5.

Portador L: incluye A1-A1, A1-A4, A1-A5, A2-A1, A2-A4 y A2-A5.

p: χ^2 de tendencia.

El gen TNF- α codifica la citocina TNF- α ; citocina que está incrementada en la mucosa gástrica de sujetos infectados por *H. pylori* y participa de las mismas propiedades biológicas de la IL-1 β (55). Portadores del alelo TNF- α -308A tienen un aumento en la producción de TNF- α y un riesgo mayor de cáncer gástrico (56), riesgo presente en poblaciones caucásicas (17,18), controversial en poblaciones asiáticas (17,18) y ausente en pacientes colombianos con cáncer gástrico (25).

La ausencia del genotipo TNF- α -308AA en todos los grupos del estudio confirma los hallazgos previos de Torres *et al.* (25) y de Sugimoto *et al.*, en Japón (57); no se encontró asociación entre este polimorfismo y cáncer gástrico, resultado acorde con el estudio nacional (25) y reportes asiáticos (18,57), y opuesto a los estudios en población caucásica (17,18) y mexicana (58).

Aunque el grupo de úlcera duodenal presentó una frecuencia menor del genotipo TNF- α -308G/A, no se observó ninguna asociación; resultado similar al de estudios asiáticos (16,45,57,59) y en España (19), y diferente de otros donde la asociación es al genotipo TNF- α -308GG (60), o en sujetos portadores del alelo TNF- α -308A (58).

En pacientes con úlcera duodenal se han observado niveles de TNF- α mayores en la mucosa, y una correlación inversa con los niveles de IL-10, indicativos de un desequilibrio entre la respuesta Th1 y Th2 (61). La ausencia del genotipo TNF- α -308AA revelaría una característica genética de la población colombiana, similar a las poblaciones asiática y hondureña (18), y, posiblemente, una actividad biológica mínima proinflamatoria como respuesta a la infección crónica por *H. pylori* en cáncer gástrico y úlcera duodenal en nuestra población.

Entre las citocinas antiinflamatorias más importantes en la respuesta inmune está la IL-10, codificada por el gen IL-10, que inhibe la producción de citocinas como la IL-1 β , TNF- α , entre otras (62). La citocina IL-10 está aumentada en la mucosa de sujetos con infección por *H. pylori* (6,53), con cáncer gástrico (63), y úlcera (53,61). Los genotipos IL-10-1082AA e IL-10-819TT están asociados a baja cantidad de IL-10 en la mucosa gástrica (37) y a cáncer gástrico (64).

En poblaciones caucásicas el genotipo IL-10-1082AA, y en poblaciones asiáticas, los genotipos IL-10-1082GG (13) o IL-10-1082AG (20,65), están asociados a cáncer gástrico. La frecuencia

mayor del genotipo IL-10-1082AA en todos los sujetos del presente estudio es similar a las poblaciones asiáticas y latinas, y opuesta a las caucásicas (20,65); sin embargo, el resultado de no asociación a cáncer gástrico es disímil, tanto en poblaciones asiáticas (20,65), debido a que su alelo de riesgo es el G, como con poblaciones caucásicas (65).

Con úlcera duodenal, los reportes de literatura del polimorfismo IL-10-1882 son de no asociación (22,23,66), resultado igual a los del presente estudio. La ausencia de asociación de IL-10-1082 en esta investigación se puede deber a la mayor frecuencia del genotipo IL-10-1082AA en todos los sujetos estudiados, de modo que dicho polimorfismo tendría poca contribución a modular el riesgo de cáncer gástrico, e indicaría una respuesta disminuida del huésped al proceso de inflamación crónica, lo cual permitiría la acción de las citocinas proinflamatorias y los cambios neoplásicos que favorecen el desarrollo de cáncer gástrico, como se observa en los resultados del presente estudio.

Con respecto al polimorfismo IL-10-819, el genotipo IL-10-819TT en poblaciones caucásicas, y el genotipo IL-10919GG en poblaciones asiáticas, se han asociado a cáncer gástrico (21,66). En el presente estudio la distribución de los genotipos de este polimorfismo y la no asociación a cáncer gástrico son similares a los de poblaciones caucásicas, y opuesta a los de las asiáticas (21). Con úlcera duodenal no se observó ninguna asociación, resultado similar a estudios asiáticos (66) y en pacientes italianos (22).

El diagnóstico serológico de infección por *H. pylori* CagA positivo, indicador de infección pasada o actual, se asoció a la presencia de cáncer gástrico, resultado que ratifica la infección por cepas virulentas de *H. pylori* como factor de riesgo principal para cáncer gástrico (67,68).

En úlcera duodenal los resultados son contradictorios: tanto asociaciones positivas (5,15,22,50,51,61,69) como negativas (70). La no asociación de infección por *H. pylori* CagA positivo a úlcera duodenal se puede deber a: la distribución similar entre los casos y los controles; el hecho de que la sola infección por *H. pylori* CagA no explicaría la presencia de úlcera duodenal como causa primaria; los factores de virulencia del *H. pylori* se asocian a la úlcera duodenal en poblaciones donde tanto la prevalencia de infección por *H. pylori* como la de los factores de virulencia es baja (70); los sujetos con úlcera duodenal con menos de 6 meses de evolución o en

estadios tempranos con sintomatología no tienen infección por *H. pylori* (71); y el genotipo CagA no es factor que discrimine entre gastritis y úlcera duodenal, según un estudio que incluyó pacientes colombianos (72).

Cabe resaltar el hallazgo, en la población estudiada, de pacientes con úlcera duodenal junto con la presencia de lesiones preneoplásicas. Se ha reportado que pacientes con úlcera duodenal rara vez desarrollan lesiones malignas (11,73); sin embargo, la presencia de úlcera duodenal y lesiones preneoplásicas no es una entidad rara (74-76). En pacientes con úlcera duodenal la frecuencia de gastritis atrófica en el antro es muy variable en: Japón es del 5% (74); en Perú, del 11,8% (77); en la India, del 21% (78); y en Corea, del 17,4% (79). Igualmente lo es la presencia de metaplasia en el antro: del 10,0% (74), el 13,5% (77), el 13,0% (78), y el 11,2% (79); y del 46%, en pacientes de Bogotá (76), valor superior al encontrado en el presente estudio: del 27%.

Diferentes autores plantean que la convergencia de estas formas de gastritis se debe a que en pacientes con úlcera duodenal hay una expansión de la gastritis hacia el cuerpo, con una disminución en la secreción de ácido, que conlleva una pangastritis atrófica, la cual se expande lentamente; cuando la gastritis atrófica y la metaplasia se extienden al cuerpo indican que la velocidad de expansión es rápida, situación que indicaría, a su vez, un riesgo mayor para cáncer gástrico; no así, la gastritis atrófica con y sin metaplasia en el antro —situación que aplicaría para el presente estudio—; las variaciones en la expansión entre las diferentes poblaciones indicarían que los factores ambientales serían más importantes que los genéticos; entre ellos, la dieta (76).

Para otros autores, la persistencia de infección por *H. pylori* que lleva a la atrofia y a la metaplasia sugiere diferencias en la respuesta inmune en diferentes partes de la mucosa gástrica y duodenal (78). También está posible simultaneidad de una nueva infección en sujetos con lesiones preneoplásicas, sin una respuesta inmune fuerte del huésped, que lleve a la eliminación de la nueva infección. Hasta la fecha no hay publicaciones que estudien la actividad genética del huésped y de la bacteria en estos pacientes; por lo tanto, tales datos serían los primeros.

La interpretación de los resultados debe realizarse en el contexto de sus limitaciones. El pequeño tamaño de la muestra y el bajo número de casos de cáncer gástrico y úlcera duodenal afecta el po-

der de las asociaciones hacia una no asociación. Los controles fueron pacientes hospitalarios sintomáticos, que no representan a la población general, lo cual conlleva una no asociación. También está de por medio que el uso de cepas de *H. pylori* de población mexicana para los análisis de serología podría afectar la frecuencia de anticuerpos IgA/IgG de *H. pylori* y *H. pylori* CagA en el estudio.

En conclusión, el presente estudio permitió observar la variedad genética de los ancestros en la etiología del cáncer gástrico: una distribución de predominio asiático (IL-1B-511, TNF- α -308, IL-10-1082), un ancestro caucásico (IL-10-819) y la particularidad del polimorfismo IL-1RN; todo ello sugiere una respuesta inmune de predominio proinflamatorio, IL-1B-511 en la etiología del cáncer gástrico, y, posiblemente, la acción de otros polimorfismos proinflamatorios y antiinflamatorios involucrados en la etiología de la úlcera duodenal. El estudio corroboró, además, la acción biológica preponderante de la infección por *H. pylori* CagA positivo en la etiología del cáncer gástrico y las lesiones preneoplásicas; igualmente, permitió detectar otros efectos de la infección por *H. pylori*, como la particularidad y la versatilidad de las lesiones benignas y malignas simultáneas —úlcera duodenal con lesiones preneoplásicas—. Sin embargo, se necesitan otros estudios que evalúen el impacto potencial de estos biomarcadores a la hora de identificar a población de alto riesgo para cáncer gástrico.

Agradecimientos

Los autores agradecemos al grupo de médicos y paramédicos que captaron los pacientes: Carlos Rizo, Andrés Vecino, Carlos Pinzón y Rosaura Galvis, y Adrey González (citohistotecnóloga), en el Instituto Nacional de Cancerología, y a Juan Carlos Espinel, Cristina Millán y Gloria Pérez, en el Hospital San Rafael, de Tunja. También agradecemos a todos los gastroenterólogos involucrados en el proyecto: Ricardo Oliveros y Rosario Albis (Grupo de Gastroenterología del INC ESE; Fernando Peñalosa (Hospital Universitario de Kennedy, de Bogotá); Jorge Salek (Hospital Militar); Albis Jani (Hospital Universitario de San Ignacio, de Bogotá); César Redondo (en Cartagena), César Suárez (en Santa Marta) y José Jaramillo (en Santa Marta).

Finalmente, agradecemos de manera especial a Nubia Muñoz, exdirectora de Unit of Field and Intervention Studies, IARC, en Lyon, Francia, por su empeño en que fuera posible la realización del estudio "Helicobacter Pylori: International prevalence,

peptic ulcer disease and gastric neoplasia" en nuestro país.

Financiación

La investigación fue financiada con Recursos Inversión Nación, del Instituto Nacional de Cancerología (INC), y por la Agencia Internacional para la Investigación en Cáncer (IARC).

Referencias

1. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, et al. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin*. 2005;55:74-108.
2. Instituto Nacional de Cancerología (INC) Colombia. Cáncer en cifras. Mortalidad. Mortalidad nacional por tipo de cáncer. Mortalidad por cáncer según primeras causas y sexo, 2000-2006 [internet]. 2006 [citado: 5 de noviembre del 2010]. Disponible en: <http://cancer.gov.co/>.
3. Piñeros M, Hernández G, Bray F. Increasing mortality rates of common malignancies in Colombia: an emerging problem. *Cancer*. 2004;101:2285-92.
4. Zambon CF, Navaglia F, Basso D, et al. Helicobacter pylori babA2, cagA, and sl vacA genes work synergistically in causing intestinal metaplasia. *J Clin Pathol*. 2003;56:287-91.
5. Zambon CF, Basso D, Navaglia F, 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;18:242-51.
6. Holck S, Norgaard A, Bennedsen M, et al. Gastric mucosal cytokine responses in Helicobacter pylori-infected patients with gastritis and peptic ulcers. Association with inflammatory parameters and bacteria load. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2003;36:175-80.
7. Sutton P, Kolesnikow T, Danon S, et al. Dominant nonresponsiveness to Helicobacter pylori infection is associated with production of interleukin 10 but not gamma interferon. *Infect Immun*. 2000;68:4802-4.
8. Furuta T, El-Omar EM, Xiao F, et al. Interleukin 1beta polymorphisms increase risk of hypochlorhydria and atrophic gastritis and reduce risk of duodenal ulcer recurrence in Japan. *Gastroenterology*. 2002;123:92-105.
9. Hwang IR, Kodama T, Kikuchi S, et al. Effect of interleukin 1 polymorphisms on gastric mucosal interleukin 1beta production in Helicobacter pylori infection. *Gastroenterology*. 2002;123:1793-803.
10. El-Omar EM, Penman ID, Ardill JE, et al. Helicobacter pylori infection and abnormalities of acid secretion in patients with duodenal ulcer disease. *Gastroenterology*. 1995;109:681-91.
11. Uemura N, Okamoto S, Yamamoto S, et al. Helicobacter pylori infection and the development of gastric cancer. *N Engl J Med*. 2001;345:784-9.
12. Camargo MC, Mera R, Correa P, et al. Interleukin-1beta and interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphisms and gastric cancer: a meta-analysis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2006;15:1674-87.
13. Loh M, Koh KX, Yeo BH, et al. Meta-analysis of genetic polymorphisms and gastric cancer risk: variability in associations according to race. *Eur J Cancer*. 2009;45:2562-8.
14. Xue H, Lin B, Ni P, et al. Interleukin-1B and interleukin-1 RN polymorphisms and gastric carcinoma risk: a meta-analysis. *J Gastroenterol Hepatol*. 2010;25:1604-17.
15. García-González MA, Lanás A, Savelkoul PH, et al. Association of interleukin 1 gene family polymorphisms with duodenal ulcer disease. *Clin Exp Immunol*. 2003;134:525-31.
16. Kim N, Cho SI, Yim JY, et al. The effects of genetic polymorphisms of IL-1 and TNF-A on Helicobacter pylori-induced gastroduodenal diseases in Korea. *Helicobacter*. 2006;11:105-12.
17. Gorouhi F, Islami F, Bahrami H, et al. Tumour-necrosis factor-A polymorphisms and gastric cancer risk: a meta-analysis. *Br J Cancer*. 2008;98:1443-51.
18. Zhang J, Dou C, Song Y, et al. Polymorphisms of tumor necrosis factor-alpha are associated with increased susceptibility to gastric cancer: a meta-analysis. *J Hum Genet*. 2008;53:479-89.
19. García-González MA, Savelkoul PH, Benito R, et al. No allelic variant associations of the IL-1 and TNF gene polymorphisms in the susceptibility to duodenal ulcer disease. *Int J Immunogenet*. 2005;32:299-306.
20. Zhou Y, Li N, Zhuang W, et al. Interleukin-10 -1082 promoter polymorphism associated with gastric cancer among Asians. *Eur J Cancer*. 2008;44:2648-54.
21. Chen KF, Li B, Wei YG, et al. Interleukin-10 -819 promoter polymorphism associated with gastric cancer among Asians. *J Int Med Res*. 2010;38:1-8.
22. Zambon CF, Basso D, Navaglia F, Belluco C, Falda A, Fogar P, et al. Pro-and anti-inflammatory cytokines gene polymorphisms and Helicobacter pylori infection: interactions influence outcome. *Cytokine*. 2005;29:141-52.
23. Kang JM, Kim N, Lee DH, et al. The effects of genetic polymorphisms of IL-6, IL-8, and IL-10 on Helicobacter pylori-induced gastroduodenal diseases in Korea. *J Clin Gastroenterol*. 2009;43:420-8.
24. Arango MT, Jaramillo C, Montealegre MC, et al. Genotipificación de los polimorfismos -511, -31 y +3954 del gen de la interleucina-1β humana en una población colombiana con cuadro de dispepsia. *Biomedica*. 2010;30:199-206.
25. Torres MM, Acosta CP, Sicard DM, et al. [Genetic susceptibility and risk of gastric cancer in a human population of Cauca, Colombia]. *Biomedica*. 2004;24:153-62.
26. Dixon MF, Genta RM, Yardley JH, et al. Classification and grading of gastritis. The updated Sydney System. International Workshop on the Histopathology of Gastritis, Houston 1994. *Am J Surg Pathol*. 1996;20:1161-81.
27. Lauren P. The Two Histological Main Types of Gastric Carcinoma: Diffuse and So-Called Intestinal-Type Carcinoma. an Attempt at a Histo-Clinical Classification. *Acta Pathol Microbiol Scand*. 1965;64:31-49.
28. Smith SI, Oyediji KS, Arigbabu AO, et al. Comparison of three PCR methods for detection of Helicobacter pylori DNA and detection of cagA gene in gastric biopsy specimens. *World J Gastroenterol*. 2004;10:1958-60.
29. Johnson VJ, Yuceosoy B, Luster MI. Genotyping of single nucleotide polymorphisms in cytokine genes using real-time PCR allelic discrimination technology. *Cytokine*. 2004;27:135-41.

30. Buchs N, di Giovine FS, Silvestri T, et al. IL-1B and IL-1Ra gene polymorphisms and disease severity in rheumatoid arthritis: interaction with their plasma levels. *Genes Immun.* 2001;2:222-8.
31. Perri F, Piepoli A, Bonvicini C, et al. Cytokine gene polymorphisms in gastric cancer patients from two Italian areas at high and low cancer prevalence. *Cytokine.* 2005;30:293-302.
32. Camorlinga-Ponce M, Torres J, Pérez-Pérez G, et al. Validation of a serologic test for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection and the immune response to urease and CagA in children. *Am J Gastroenterol.* 1998;93:1264-70.
33. Camorlinga-Ponce M, Flores-Luna L, Lazcano-Ponce E, et al. Age and severity of mucosal lesions influence the performance of serologic markers in *Helicobacter pylori*-associated gastroduodenal pathologies. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2008;17:2498-504.
34. Martínez T, Hernández G, Rojas C. La dieta y su asociación con lesiones preneoplásicas y cáncer gástrico en una zona de alto riesgo para cáncer gástrico en Colombia I, 2000-2006. *Revista Colombiana de Cancerología.* 2008;12:74-88.
35. Rad R, Prinz C, Neu B, et al. Synergistic effect of *Helicobacter pylori* virulence factors and interleukin-1 polymorphisms for the development of severe histological changes in the gastric mucosa. *J Infect Dis.* 2003;188:272-81.
36. Arend WP, Malyak M, Guthridge CJ, et al. Interleukin-1 receptor antagonist: role in biology. *Annu Rev Immunol.* 1998;16:27-55.
37. Rad R, Dossumbekova A, Neu B, et al. Cytokine gene polymorphisms influence mucosal cytokine expression, gastric inflammation, and host specific colonization during *Helicobacter pylori* infection. *Gut.* 2004;53:1082-9.
38. Alpizar-Alpizar W, Pérez-Pérez GI, Une C, et al. Association of interleukin-1B and interleukin-1RN polymorphisms with gastric cancer in a high-risk population of Costa Rica. *Clin Exp Med.* 2005;5:169-76.
39. Con SA, Takeuchi H, Con-Chin GR, et al. Role of bacterial and genetic factors in gastric cancer in Costa Rica. *World J Gastroenterol.* 2009;15:211-8.
40. Melo Barbosa HP, Martins LC, Dos Santos SE, et al. Interleukin-1 and TNF-alpha polymorphisms and *Helicobacter pylori* in a Brazilian Amazon population. *World J Gastroenterol.* 2009;15:1465-71.
41. Canas M, Moran Y, Rivero MB, et al. [Interleukin-1 genetic polymorphism: association with gastric cancer in the high-risk Central-Western population of Venezuela]. *Rev Med Chil.* 2009;137:63-70.
42. Morgan DR, Dominguez RL, Keku TO, et al. Gastric cancer and the high combination prevalence of host cytokine genotypes and *Helicobacter pylori* in Honduras. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2006;4:1103-11.
43. Garza-González E, Bosques-Padilla FJ, El-Omar E, et al. Role of the polymorphic IL-1B, IL-1RN and TNF-A genes in distal gastric cancer in Mexico. *Int J Cancer.* 2005;114:237-41.
44. García-González MA, Lanas A, Santolaria S, et al. The polymorphic IL-1B and IL-1RN genes in the aetiopathogenesis of peptic ulcer. *Clin Exp Immunol.* 2001;125:368-75.
45. Mei Q, Xu JM, Cao HL, et al. Associations of the IL-1 and TNF gene polymorphisms in the susceptibility to duodenal ulcer disease in Chinese Han population. *Int J Immunogenet.* 2009;37:9-12.
46. Sicinschi LA, López-Carrillo L, Camargo MC, et al. Gastric cancer risk in a Mexican population: role of *Helicobacter pylori* CagA positive infection and polymorphisms in interleukin-1 and -10 genes. *Int J Cancer.* 2006;118:649-57.
47. Gatti LL, Burbano RR, de Assumpcao PP, et al. Interleukin-1beta polymorphisms, *Helicobacter pylori* infection in individuals from Northern Brazil with gastric adenocarcinoma. *Clin Exp Med.* 2004;4:93-8.
48. Rodas C, Gelvez N, Keyeux G. Mitochondrial DNA studies show asymmetrical Amerindian admixture in Afro-Colombian and mestizo populations. *Hum Biol.* 2003;75:13-30.
49. Li C, Xia HH, Xie W, et al. Association between interleukin-1 gene polymorphisms and *Helicobacter pylori* infection in gastric carcinogenesis in a Chinese population. *J Gastroenterol Hepatol.* 2007;22:234-9.
50. Sierra R, Une C, Ramírez V, et al. Relation of atrophic gastritis with *Helicobacter pylori*-CagA(+) and interleukin-1 gene polymorphisms. *World J Gastroenterol.* 2008;14:6481-7.
51. Hsu PI, Li CN, Tseng HH, et al. The interleukin-1 RN polymorphism and *Helicobacter pylori* infection in the development of duodenal ulcer. *Helicobacter.* 2004;9:605-13.
52. Chakravorty M, Ghosh A, Choudhury A, et al. Interaction between IL1B gene promoter polymorphisms in determining susceptibility to *Helicobacter pylori* associated duodenal ulcer. *Hum Mutat.* 2006;27:411-9.
53. Goll R, Gruber F, Olsen T, et al. *Helicobacter pylori* stimulates a mixed adaptive immune response with a strong T-regulatory component in human gastric mucosa. *Helicobacter.* 2007;12:185-92.
54. Stromberg E, Lundgren A, Edebo A, et al. Increased frequency of activated T-cells in the *Helicobacter pylori*-infected antrum and duodenum. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2003;36:159-68.
55. Beales IL, Calam J. Interleukin 1 beta and tumour necrosis factor alpha inhibit acid secretion in cultured rabbit parietal cells by multiple pathways. *Gut.* 1998;42:227-34.
56. Machado JC, Figueiredo C, Canedo P, et al. A proinflammatory genetic profile increases the risk for chronic atrophic gastritis and gastric carcinoma. *Gastroenterology.* 2003;125:364-71.
57. Sugimoto M, Furuta T, Shirai N, et al. Different effects of polymorphisms of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-1 beta on development of peptic ulcer and gastric cancer. *J Gastroenterol Hepatol.* 2007;22:51-9.
58. Partida-Rodríguez O, Torres J, Flores-Luna L, et al. Polymorphisms in TNF and HSP-70 show a significant association with gastric cancer and duodenal ulcer. *Int J Cancer.* 2010;126:1861-8.
59. Li C, Xia B, Yang Y, et al. TNF gene polymorphisms and *Helicobacter Pylori* infection in gastric carcinogenesis in Chinese population. *Am J Gastroenterol.* 2005;100:290-4.
60. Kunstmann E, Epplen C, Elitok E, et al. *Helicobacter pylori* infection and polymorphisms in the tumor necrosis factor region. *Electrophoresis.* 1999;20:1756-61.
61. Klausz G, Tiszai A, Tiszlavitcz L, et al. Local and peripheral cytokine response and CagA status of *Helicobacter pylori*-

- positive patients with duodenal ulcer. *Eur Cytokine Netw*. 2003;14:143-8.
62. Moore KW, de Waal Malefyt R, Coffman RL, et al. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. *Annu Rev Immunol*. 2001;19:683-765.
 63. Lundin BS, Enarsson K, Kindlund B, et al. The local and systemic T-cell response to *Helicobacter pylori* in gastric cancer patients is characterised by production of interleukin-10. *Clin Immunol*. 2007;125:205-13.
 64. El-Omar EM, Rabkin CS, Gammon MD, et al. Increased risk of noncardia gastric cancer associated with proinflammatory cytokine gene polymorphisms. *Gastroenterology*. 2003;124:1193-201.
 65. Won HH, Kim JW, Kim MJ, et al. Interleukin 10 polymorphisms differentially influence the risk of gastric cancer in East Asians and Caucasians. *Cytokine*. 2010;51:73-7.
 66. Sugimoto M, Furuta T, Shirai N, et al. Effects of interleukin-10 gene polymorphism on the development of gastric cancer and peptic ulcer in Japanese subjects. *J Gastroenterol Hepatol*. 2007;22:1443-9.
 67. Huang JQ, Zheng GF, Sumanac K, et al. Meta-analysis of the relationship between cagA seropositivity and gastric cancer. *Gastroenterology*. 2003;125:1636-44.
 68. Palli D, Masala G, Del Giudice G, et al. CagA+ *Helicobacter pylori* infection and gastric cancer risk in the EPIC-EURGAST study. *Int J Cancer*. 2007;120:859-67.
 69. Pietroiusti A, Luzzi I, Gomez MJ, et al. *Helicobacter pylori* duodenal colonization is a strong risk factor for the development of duodenal ulcer. *Aliment Pharmacol Ther*. 2005;21:909-15.
 70. Tovey FI, Hobsley M, Holton J. *Helicobacter pylori* virulence factors in duodenal ulceration: A primary cause or a secondary infection causing chronicity. *World J Gastroenterol*. 2006;12:6-9.
 71. Boulos PB, Botha A, Hobsley M, et al. Possible absence of *Helicobacter pylori* in the early stages of duodenal ulceration. *Qjm*. 2002;95:749-52.
 72. Yamaoka Y, Soucek J, Odenbreit S, et al. Discrimination between cases of duodenal ulcer and gastritis on the basis of putative virulence factors of *Helicobacter pylori*. *J Clin Microbiol*. 2002;40:2244-6.
 73. Hansson LE, Nyren O, Hsing AW, et al. The risk of stomach cancer in patients with gastric or duodenal ulcer disease. *N Engl J Med*. 1996;335:242-9.
 74. Tsukui T, Kashiwagi R, Sakane M, et al. Aging increases, and duodenal ulcer reduces the risk for intestinal metaplasia of the gastric corpus in Japanese patients with dyspepsia. *J Gastroenterol Hepatol*. 2001;16:15-21.
 75. Kimura K, Sipponen P, Unge P, et al. Comparison of gastric histology among Swedish and Japanese patients with peptic ulcer and *Helicobacter pylori* infection. *Scand J Gastroenterol*. 2003;38:491-7.
 76. El-Zimaity HMT, Gutierrez O, Kim JG, et al. Geographic differences in the distribution of intestinal metaplasia in duodenal ulcer patients. *Am J Gastroenterol*. 2001;96:666-72.
 77. Ramírez Ramos A, Recavarren Arce S, Arias Stella J, et al. [*Helicobacter Pylori*, Chronic Gastritis, Gastric And duodenal Ulcer: Study of 1638 Patients]. *Rev Gastroenterol Peru*. 1999;19:196-201.
 78. Kumar D, Dhar A, Dattagupta S, et al. Pre and post eradication gastric inflammation in *Helicobacter pylori*-associated duodenal ulcer. *Indian J Gastroenterol*. 2002;21:7-10.
 79. Cho SJ, Choi IJ, Kim CG, et al. Risk factors associated with gastric cancer in patients with a duodenal ulcer. *Helicobacter*. 2010;15:516-23.