

11262 15



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN
CIENCIAS MÉDICAS

"EXPRESIÓN DE CITOCROMOS P450 EN EL
PROCESO DE CARCINOGENESIS GÁSTRICA"

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRÍA EN CIENCIAS MÉDICAS

P R E S E N T A

ALMA LAURA LADRÓN DE GUEVARA CETINA

TUTORA
JULIETA RUBIO LIGHTBOURN

MEXICO, D.F. 2002

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

PAGINACION

DISCONTINUA



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

COORDINACIÓN DEL PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO
EN CIENCIAS MÉDICAS, ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD

ING. LEOPOLDO SILVA GUTIÉRREZ
DIRECTOR GENERAL DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
Presente

Me permito informar a usted, que el Subcomité Académico de las Ciencias Médicas, del Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Médicas, Odontológicas y de la Salud, según acuerdo AA3(CM/SCA/SO/29/02) acordó designar y se formaliza por el Comité Académico del Programa, el jurado para el examen de grado de Maestra en Ciencias, (Plan 4006) de la C. Alma Laura Ladron de Guevara Cetina, quien defenderá la tesis denominada "Expresión de citocromos P450 en el proceso de carcinogénesis gástrica".

PRESIDENTE	DRA. VICTORIA EUGENIA CHAGOYA HAZAS DE SÁNCHEZ
SECRETARIO	DR. ALEJANDRO MOHAR BETANCOURT
VOCAL	DRA. JULIETA RUBIO LIGHTBOURN
SUPLENTE	DR. LUIS BENITEZ BRIBIESCA
SUPLENTE	DR. LUIS FELIPE MONTAÑO ESTRADA

Sin otro particular, reciba un cordial saludo.

Atentamente
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Ciudad Universitaria, D. F. a 24 de julio de 2002.

DR. LUIS FELIPE ABREU H.
El Coordinador

NOTA: Por acuerdo de Subcomité Académico, la formalización de este Jurado de Examen de Grado, tiene una vigencia de 6 (seis) meses a partir de la fecha de aprobación del mismo. Excedido el tiempo, el alumno deberá someter a consideración del Subcomité Académico una nueva propuesta de jurado.

LFAH/TST/MEIK

*The great tragedy of Science –
the slaying of a beautiful hypothesis by an ugly fact.*
Thomas H. Huxley

Este trabajo se realizó en el Instituto de Investigaciones Biomédicas de la UNAM en el laboratorio de la Dra. Julieta Rubio Lightbourn del departamento de Medicina Genómica y Toxicología Ambiental y fue financiado por CONACYT con el registro 34988-M.

Dedico este trabajo a Kevin y Karinne

Agradezco

Por su invaluable apoyo a:

Lic. Alicia Cetina y C.P. Othón Ladrón de Guevara

Dr. Gunther Figueroa

Por su apoyo académico cuando encontré grandes dificultades a:

Dra. Julieta Rubio y Mtra. Clementina Castro

Dr. Alejandro Mohar y Químico Celedonio Gómez

Dra. Ma. Teresa Gorráez de la Mora

Por su entusiasmo y colaboración a:

Estudiante de IBB Rosario Pérez Molina

Por las facilidades que me proporcionaron para llevar a cabo las actividades relacionadas a este proyecto a:

Dr. Mauricio Di Silvio

Dr. Luis Padilla

Dr. Luis Felipe Montaña

Índice

Dedicatorias	I
Índice	V
Resumen	IX
Abstract	XI
Introducción	1
Epidemiología	1
Histopatología	2
Etiología	5
Factores de riesgo del adenocarcinoma gástrico	8
Metabolismo de carcinógenos por Enzimas de Fase I: CYP	9
Inflamación y CYP	14
Justificación	19
Hipótesis	21
Objetivos	22
Metodología	24
Inmunohistoquímica	24
Evaluación estadística	30
Resultados	35
Discusión	43
Conclusiones	58
Tablas y Figuras	60
Esquema 1: Hipótesis del desarrollo del cáncer gástrico	60
Tabla 1: Localización cromosómica de genes de CYP y factores regulatorios	61
Esquema 2: Modelo de funcionamiento para la inducción de CYP1A1	62
Tabla 2: Sustratos de CYP1A2	63

Tabla 3: Carcinógenos activados por la familia 2B	64
Tabla 4: Compuestos sustratos, inductores e inhibidores de CYP2E1	65
Tabla 5: Medicamentos sustratos, inductores e inhibidores de CYP3A4	66
Tabla 6: Características de los grupos	67
Gráfica 1: Expresión inmunohistoquímica de CYP1A2 por lesión	68
Tabla 7: Porcentaje e Intervalos de Confianza 95% de la expresión de CYP1A2	68
Tabla 8: Análisis univariado para CYP1A2	69
Tabla 9: Comparación de características entre las muestras negativas y positivas a CYP1A2 dependiendo de la presencia de <i>H. pylori</i>	69
Tabla 10: Razón de momios e Intervalos de Confianza al 95% univariado para CYP1A2 positivo a <i>H. pylori</i>	70
Tabla 11: Regresión Logística Completa para CYP1A2	70
Tabla 12: Razón de Momios e Intervalos de Confianza al 95% de la Regresión Logística para CYP1A2	70
Gráfica 2: Expresión inmunohistoquímica de CYP2B6 por diagnóstico	71
Tabla 13: Porcentaje e Intervalos de Confianza al 95% de la expresión de CYP 2B6	71
Tabla 14: Análisis univariado para CYP2B6	72
Tabla 15: Comparación de características entre las muestras negativas y positivas a CYP2B6 dependiendo de la presencia de <i>H. pylori</i>	72
Tabla 16: Razón de Momios e Intervalo de confianza al 95% para el análisis univariado de CYP2B6 positivo a <i>H. pylori</i>	73
Tabla 17: Regresión Múltiple Completa para CYP2B6	73
Tabla 18: Razón de Momios e Intervalos de Confianza al 95% para la Regresión Logística de CYP2B6	73
Gráfica 3: Expresión inmunohistoquímica de CYP2E1	

por lesión gástrica	74
Tabla 19: Porcentaje e Intervalos de Confianza al 95% de la expresión de CYP 2E1	74
Tabla 20: Análisis univariado para CYP2E1	75
Tabla 21: Comparación de características entre las muestras negativas y positivas a CYP2E1 dependiendo de la presencia de <i>H. pylori</i>	75
Tabla 22: Razón de Momios e Intervalo de confianza al 95% para el análisis univariado de CYP2E1 positivo a <i>H. pylori</i>	76
Tabla 23: Regresión Múltiple Completa para la expresión de CYP2E1	76
Tabla 24: Razón de Momios e Intervalos de Confianza al 95% para la Regresión Logística de la expresión de CYP2E1	76
Gráfica 4: Expresión inmunohistoquímica de CYP3A4 por lesión gástrica	77
Tabla 25: Porcentaje e Intervalos de Confianza al 95% de la expresión de CYP3A4	77
Tabla 26: Análisis univariado para CYP3A4	78
Tabla 27: Comparación de características entre las muestras negativas y positivas a CYP2E1 dependiendo de la presencia de <i>H. pylori</i>	78
Tabla 28: Razón de Momios e Intervalo de confianza al 95% para el análisis univariado de CYP3A4 positivo a <i>H. pylori</i>	79
Tabla 29: Regresión Múltiple Completa para la expresión de CYP3A4	79
Tabla 30: Razón de Momios e Intervalos de Confianza al 95% para la Regresión Logística de la expresión de CYP3A4	79
Imagen 1: Imágenes microscópicas de la expresión de CYP1A2	80
Imagen 2: Imágenes Microscópicas de la expresión de CYP2B6	81
Imagen 3: Imágenes Microscópicas de la expresión de CYP2E1	82
Imagen 4: Imágenes Microscópicas de la expresión de CYP3A4	83
Bibliografía	84
Anexo 1: La mucosa gástrica normal como reservorio celular	98
Anexo 2: Clasificación de Sydney para Gastritis y Clasificación de Lauren para Adenocarcinoma Gástrico	100

**Anexo 3: Listado de Medicamentos o Sustancias Químicas Sustratos, Inductores
o Inhibidores de Citocromos P450**

RESUMEN

El adenocarcinoma gástrico es la segunda neoplasia más frecuente en el mundo y se relaciona a factores ambientales (ingesta de nitritos, tabaquismo e infección por *Helicobacter pylori*) como un determinante en el desarrollo de este tumor. Se ha propuesto que está precedido por lesiones precursoras y se han sugerido modelos epidemiológicos de carcinogénesis gástrica. Los citocromos P450 (CYPs) tienen un papel importante en la activación oxidativa y detoxificación de xenobióticos, y se han implicado como un factor de riesgo para el desarrollo de cáncer. En este estudio se investigaron por inmunohistoquímica, la presencia y localización celular en mucosa gástrica de CYPs que intervienen en metabolismo de carcinógenos, desde la mucosa gástrica normal, procesos inflamatorios (gastritis crónica activa e inactiva), metaplasia intestinal, atrofia y adenocarcinoma gástrico. Además se correlacionaron factores que influyen en su expresión: género, inflamación, ingesta de medicamentos, presencia de *H. pylori* y tabaquismo.

Encontramos que existe expresión de CYPs en la mucosa gástrica normal y que disminuye en las gastritis y en el adenocarcinoma gástrico. Solo en la metaplasia intestinal se observó CYP2E1 en todas las muestras analizadas. Se corroboró que el género y la ingesta de medicamentos se correlacionan con la presencia de CYP3A4. Además CYP1A2 tuvo asociación positiva con tabaquismo. Un hallazgo importante fue que *H. pylori* se asoció inversamente a presencia de

CYP2B6 y CYP3A4 mientras que la inflamación crónica tuvo relación inversa con CYP2E1. Por los resultados no se puede sugerir que los cambios de expresión de CYPs sean marcadores positivos de carcinogénesis gástrica.

ABSTRACT

Gastric adenocarcinoma is the second most frequent cancer in the whole world, and it has been related to environmental factors (nitrate ingestion, smoking, and *Helicobacter pylori* infection). At least two epidemiological models have been proposed and it's generally accepted that gastric cancer is preceded by predecessor lesions. Xenobiotic detoxification is performed by means of Cytochromes P450, one of the most important enzymatic systems involved in carcinogens activation and implicated as a factor in the development of cancer. In the present study we have investigated xenobiotic-metabolism participating CYPs presence and localization from the normal gastric mucosa, and compare it to gastric lesions such as chronic active and inactive gastritis, atrophic gastritis, intestinal metaplasia and gastric adenocarcinoma. Factors that influence CYPs expression such as genre, inflammation, drug-intake, *H. pylori* status and smoking were investigated as well and correlated to CYPs presence.

We found CYPs expression in the normal gastric mucosa. This expression decreases in gastritis and gastric adenocarcinoma. All intestinal metaplasia specimens showed CYP2E1 immunopositivity. It was confirmed that genre and medications are correlated with CYP3A4 expression. In addition, CYP1A2 showed a positive association with smoking. An important finding is that *H. pylori* had an inverse association with the CYP2B6 and CYP3A4 presence in inflammatory lesions while CYP2E1 had an inverse correlation with chronic

inflammation. These results indicate that CYPs expression is not suggestive of a positive gastric carcinogenesis indicator.

INTRODUCCIÓN

1. EPIDEMIOLOGÍA

El adenocarcinoma gástrico es una de las neoplasias más frecuentes en el mundo, con un estimado de 755,000 nuevos casos por año según datos de la Organización Mundial de la Salud ^{1,2,3}. Sin embargo, aunque la frecuencia de este tipo de cáncer ha disminuido en casi todas las regiones sin conocerse las causas, constituye todavía un problema de salud pública particularmente en países como Japón donde continúa siendo el más frecuente, reportándose una incidencia de 77.9 por 100,000 habitantes y comprende el 25.51% de todos los cánceres ^{1,2,3}. Sin un patrón consistente, se han establecido áreas de bajo riesgo, riesgo intermedio y de alto riesgo dependiendo de la incidencia en el género masculino: menos de 15 en 100,000 habitantes, menos de 40 por 100,000 habitantes y más de 40 por 100,000 habitantes, respectivamente ¹. Países considerados de alto riesgo son China, Finlandia, Islandia, Polonia, Hungría, Portugal, Ecuador y Colombia, además de Japón ^{1,3}.

América Latina es considerada un área de riesgo intermedio. Los únicos datos de incidencia anual existentes son los reportados en Costa Rica y Brasil de 45 por 100,000 habitantes en ambos países ¹, aunque cabe hacer notar que no en todos los países se registra la incidencia de tumores malignos, sino más bien se enumera la mortalidad por neoplasias.

Otra particularidad importante es que se han detectado variaciones regionales como las informadas en Japón y China donde en regiones como Yamagata, Japón se reportan 93.3 casos por 100,000 habitantes, superior al promedio nacional o en Huaian City, donde la frecuencia es de 65.3 casos por 100,000 contra 32.7 casos por 100,000 habitantes en la provincia de Jaingsu, ambas en China^{3,4}.

Cuando se analiza la problemática de las neoplasias en México, se puede observar que ocupan el segundo lugar de causas de muerte general, con una tasa reportada por la Secretaría de Salud en 1999 de 54.7 por 100,000 habitantes. Específicamente, el cáncer gástrico ha ocupado de forma alternativa durante muchos años el segundo y el tercer lugar de frecuencia en neoplasias, con una tasa de mortalidad de 8.1 para la población entre 45 a 54 años, acentuándose esta frecuencia en los segmentos de población mayor de 65 años con una tasa de 63.2 casos por 100,000 habitantes⁵. Las muertes reportadas por tumores malignos según entidad federativa de residencia habitual indican que el cáncer gástrico tiene una tasa de mortalidad más alta en Yucatán (8.66), Chiapas (8.08), Chihuahua (7.90) y Sonora (7.11) en comparación con otros estados como Querétaro (3.40) o el Estado de México (3.00)^{5,6,7}.

2. HISTOPATOLOGÍA

Se han propuesto varias clasificaciones histológicas para el cáncer gástrico y entre las más aceptadas se encuentran la Clasificación de Lauren y la Clasificación de la Organización Mundial de la Salud. La Clasificación de Lauren considera dos

prototipos de adenocarcinomas gástricos tomando en cuenta la imagen y el sitio de tumor: el intestinal y el difuso. En la clasificación de la Organización Mundial de la Salud se describen cinco tipos: el tubular, el mucinoso, el papilar, el carcinoma indiferenciado y el carcinoma de células en anillo de sello, los primeros tres corresponden al tipo intestinal y los dos últimos al adenocarcinoma de tipo difuso de la Clasificación de Lauren ^{3,8}

El adenocarcinoma de tipo intestinal forma pliegues y/o proyecciones intraluminales y está compuesto de células cúbicas o columnares altas que revisten bandas de tejido fibroso laxo organizadas en un patrón arborescente. Las glándulas pueden parecer túbulos ramificados y su luz varía en tamaño, en ocasiones pueden formar quistes. En el tejido puede haber células calciformes diseminadas. Los núcleos de las células que componen el tumor pueden ser redondos o irregulares con cromatina dispersa en un patrón granular.

El grado de diferenciación de este tipo de tumores se establece a dos niveles: arquitectura y atipia celular. Al nivel de la arquitectura un carcinoma bien diferenciado está constituido por glándulas bien formadas que pueden tener proyecciones papilares presentes en los espacios glandulares dilatados. En el tipo moderadamente diferenciado las estructuras glandulares son irregulares, complejas o incompletas y las células tumorales pueden formar agregados que semejan bandas o masas. En los pobremente diferenciados, las glándulas son poco definidas o, inclusive, puede no haberlas y presentarse como células aisladas ⁹. Con referencia a la atipia celular, un carcinoma bien diferenciado está

compuesto de células epiteliales propias funcionales y células calciformes secretoras de mucinas y en un carcinoma pobremente diferenciado las células son primitivas y no funcionales ^{8,9}. Estos dos niveles de diferenciación pueden coincidir del todo en un mismo tumor. En general, el criterio que se utiliza para determinar el grado de diferenciación de un adenocarcinoma es la arquitectura glandular ⁹. Todos los adenocarcinomas diferenciados secretan moco, que puede tener una localización intracelular o intraglandular. El exceso de moco puede romper células y glándulas, formando lagos de moco en el estroma, característica que puede observarse a simple vista. Cuando el moco ocupa más del 50% del tumor se designa adenocarcinoma mucinoso o coloide.

Los tumores difusos no tienen formaciones glandulares y se caracterizan, como su nombre lo indica, por la infiltración de células individuales, se considera que este tipo de tumor es caracterizado por su agresivo comportamiento biológico. Ocasionalmente puede haber formaciones alveolares o en cordón. El adenocarcinoma en células en anillo de sello es el prototipo de un adenocarcinoma difuso. Estos tumores no forman masas y la periferia del tumor es poco definida con sitios focales de infiltración profunda ⁹.

Desde el punto de vista clínico, el adenocarcinoma de tipo intestinal es más frecuente en sujetos del género masculino de edad mayor, mientras que el adenocarcinoma difuso es más común en personas jóvenes sin predilección por género. La Clasificación de Lauren ha sido utilizada en numerosos estudios en los

que se ha encontrado que el adenocarcinoma de tipo intestinal es más frecuente en países de alto riesgo para adenocarcinoma gástrico.

3. ETIOLOGÍA

Estudios epidemiológicos en poblaciones humanas indican que el adenocarcinoma gástrico de tipo intestinal se encuentra precedido por alteraciones de la mucosa gástrica que se presentan en forma secuencial, que son más severas y extensas conforme incrementa la edad, lo que ha planteado la hipótesis de que constituyen una secuencia que refleja cambios fenotípicos (esquema 1) ^{3,10,11,12}. El primer cambio que ocurre en la mucosa es la gastritis que por procesos de inflamación continua progresa hacia la cronicidad. Histológicamente la gastritis crónica asociada a la infección de *Helicobacter pylori* está caracterizada por un infiltrado inflamatorio crónico, presencia de folículos linfoides y un grado variable de polimorfonucleares que indican inflamación activa ^{13,14,15}. En este contexto es importante mencionar que la actividad, medida por la densidad de neutrófilos presentes en la mucosa, es un fenómeno universal de la infección por *H. pylori*, y esta densidad de neutrófilos se correlaciona con la intensidad de la infección por *H. pylori*, por lo que su presencia o ausencia es un indicador muy sensible de la infección. La presencia del infiltrado crónico sugiere una respuesta inmunológica contra *H. pylori*, con activación de la inmunidad celular y producción de citocinas, específicamente hay una producción incrementada por la mucosa de citocinas proinflamatorias: interleucina (IL)-1, IL-6 e IL-8, factor de necrosis tumoral alfa (TNF-alfa) e interferón gamma (IFN-gamma) ^{3,16,17}. La inflamación no cambia el

fenotipo epitelial gástrico, sino que promueve una respuesta exagerada del proceso de regeneración de la mucosa que lleva hacia la atrofia^{13,14}.

La atrofia del epitelio gástrico ha sido atribuida a productos de *H. pylori* como las citotoxinas y el amoniaco. Por otra parte, las proteasas y los metabolitos reactivos del oxígeno provenientes de los leucocitos polimorfonucleares y de otras células inflamatorias en el epitelio gástrico causan destrucción del epitelio. Se ha encontrado aumento del nivel de dialdehído malónico, que es un producto de la lipoperoxidación de ácidos grasos, en epitelio gástrico con atrofia comparado con epitelio gástrico sin atrofia. La prevalencia y severidad de la atrofia aumenta con la edad, aunque esto no es un efecto de la edad, sino de la duración de la infección por *H. pylori*. La atrofia constituye un cambio crítico, ya que puede permitir alteraciones del microambiente gástrico como aumento del pH y disminución de la producción de moco, que son factores reconocidos de protección gástrica¹⁴.

La metaplasia intestinal es un hallazgo común en la gastritis de cualquier etiología y su prevalencia aumenta con la edad, y por implicación con la duración de la gastritis. La metaplasia ha sido clasificada en completa o incompleta y diversos autores han propuesto clasificaciones de la misma basadas en el tipo de mucina secretada por las células caliciformes, o por el grado de distorsión celular glandular^{15,24}. La metaplasia completa o tipo I se caracteriza por ser semejante al epitelio del intestino delgado, con células caliciformes que contienen sialomucinas entremezcladas con células de absorción con borde en cepillo bien desarrollado.

La metaplasia incompleta comprende los tipos II y III. La metaplasia tipo II tiene células caliciformes con sialomucinas entremezcladas con células gástricas epiteliales con mucinas neutras o sialomucinas. La metaplasia tipo III o tipo colónico se distingue por criptas tortuosas y ramificadas cubiertas de células columnares altas que contienen abundantes sulfomucinas y sialomucinas O-acetiladas ^{10,14}. La metaplasia puede ser detectada también por cambios séricos en la relación de los niveles de pepsinógeno I y II, ya que el primero disminuye cuando la mucosa gástrica es reemplazada por mucosa intestinal ^{10,11}.

El establecimiento de la metaplasia intestinal se ha atribuido a una diferenciación divergente de las células pluripotenciales (stem cells) que al reaccionar con un medio ambiente adverso inducen diferenciación a una vía alternativa, no neoplásica, para que las células tengan ventaja para sobrevivir en condiciones desfavorables. Se ha propuesto que las metaplasias tipo I y tipo II se deben a un cambio regenerativo y de adaptación a la infección por *H. pylori*, mientras que la metaplasia tipo III, que con frecuencia está combinada con la atrofia, la hipoclorhidria y la presencia de carcinógenos intraluminales, está asociada al adenocarcinoma gástrico de tipo intestinal ¹⁸. Existe evidencia que apoya esta última correlación como el hallazgo de metaplasia tipo III en poblaciones con alta frecuencia de adenocarcinoma gástrico de tipo intestinal. En un estudio de seguimiento en Eslovenia en personas con metaplasia tipo III hubo un riesgo relativo de 2.7 a 5.8 veces mayor en el desarrollo de adenocarcinoma gástrico de tipo intestinal, comparado con personas con metaplasia de tipo I y tipo II respectivamente ¹⁹.

4. FACTORES DE RIESGO DEL ADENOCARCINOMA GÁSTRICO

Se ha demostrado que existen factores de riesgo para el desarrollo de adenocarcinoma gástrico, de los más importante es la infección por el bacilo Gram negativo *Helicobacter pylori*, una de las más frecuentes en todo el mundo, ha sido considerada como un primordial factor de riesgo para el cáncer gástrico^{3,20,21,22}, y aunque es difícil establecer directamente su manera de acción, se podrían mencionar los siguientes probables mecanismos:

- Incremento en la tasa de proliferación celular de la mucosa gástrica, demostrada con medición por incorporación de timidina marcada²³.
- Alteración celular citoplasmática y del mecanismo de secreción de moco por acción de proteasas y lipasas bacterianas, exponiendo a las células epiteliales a la acción de sustancias intraluminales^{11,18,24}.
- Inhibición del efecto local de antioxidantes, especialmente de vitamina C. Se ha reportado que en los pacientes infectados por *Helicobacter pylori* la concentración de vitamina C es menor que la de sujetos sin infección²³. Es importante señalar que la Vitamina C actúa también como un bloqueador de las reacciones de nitrosación³.
- Generación de radicales libres tanto de oxígeno como de nitrógeno por linfocitos, leucocitos polimorfonucleares y macrófagos presentes en el sitio de infección²⁵.

Por otra parte, se han encontrado que los factores de exposición ambiental, como las nitrosaminas provenientes del consumo de alimentos ahumados, la ingestión

alta de sodio, el bajo consumo de frutas y vegetales frescos y el tabaquismo, facilitan la progresión de lesiones inflamatorias gástricas hacia el cáncer ^{3,4,11,26, 27,28,29}. Otro factor de riesgo que se ha propuesto por un grupo de investigadores mexicanos es el consumo de chile³⁰. El chile contiene capsaicina, sustancia a la que se la han atribuido propiedades carcinogénicas^{31,32}. Sin embargo, la capsaicina se considera también un factor protector contra el cáncer ^{33,34,35} por lo que su papel como factor de riesgo no se ha podido valorar completamente.

El tubo digestivo está expuesto a muchos carcinógenos y se calcula que el 90% de los xenobióticos con los que el humano está en contacto atraviesan el tubo digestivo ³⁶. Aunque las células del epitelio gástrico no tienen una función de absorción, puede haber difusión pasiva de algunas sustancias debido a su estructura química (ver anexo 1), de manera particular las bases débiles, como son por ejemplo los compuestos nitroso, las aminas y las hidroxilaminas que se encuentran entre los compuestos mutagénicos y/o cancerígenos derivados de los alimentos y medicamentos.

5. METABOLISMO DE CARCINÓGENOS POR ENZIMAS DE FASE I: CITOCROMOS P450

La mayoría de los carcinógenos son metabolizados por sistemas enzimáticos presentes en células procariontes y eucariontes dando lugar a moléculas electrofilicas capaces de reaccionar con macromoléculas importantes como ácidos nucleicos y proteínas ³⁶. Las reacciones metabólicas de mayor importancia son la

oxidación, la reducción y la conjugación. Las dos primeras son catalizadas principalmente por una familia de proteínas conocida como Citocromos P450 (CYPs), los cuales tienen un papel en la regulación celular ya que participan en el metabolismo de compuestos fisiológicamente activos en la comunicación celular como por ejemplo los esteroides, los eicosanoides y los ácidos grasos.

En los animales vertebrados el hígado es el órgano que por excelencia expresa CYPs, aunque formas específicas de CYP se expresan en diferentes tejidos extrahepáticos, incluyendo el tejido cerebral, el intestino delgado, el riñón y el pulmón^{36,38,39,40,41}. Para facilitar su nomenclatura se han clasificado en familias y subfamilias. Cada familia está formada por las enzimas cuya secuencia génica es idéntica en un 40% y se identifica con un número arábigo, mientras que en una subfamilia la identidad de la secuencia es de 55% a 60% y se indica con una letra mayúscula, las formas individuales se indican con un segundo número arábigo (por ejemplo CYP3A4: familia 3, subfamilia A, forma individual 4). Hasta la fecha, el número total de genes de CYP se ha subdividido en 15 familias para mamíferos (y 29 subfamilias), 30 familias para plantas, 50 familias para bacterias, 16 familias para hongos, 7 familias para insectos, 2 familias para moluscos y 12 familias para nemátodos. En los seres humanos se han encontrado las secuencias de 35 genes de CYP pero sólo se han identificado 29 enzimas, de las cuales 16 participan en el metabolismo de xenobióticos (Tabla 1) y se ha encontrado que CYP1A1, CYP1A2, CYP2B6, CYP 2E1 y CYP3A4 intervienen en la activación de carcinógenos^{42,43}.

Los CYPs pueden tener una expresión constitutiva o inducible, y su regulación es compleja, por ejemplo la inducción de CYP1 requiere de la activación del receptor de hidrocarburos aromáticos (AhR) que se encuentra asociado a la proteína de choque térmico 90 (HSP 90) y al translocador nuclear del receptor aromático (ARNT). La unión del ligando con AhR produce la translocación nuclear del complejo formado por la liberación de HSP90 y la dimerización con ARNT. El heterodímero AhR-ARNT interactúa específicamente con el DNA, en el elemento de respuesta a xenobióticos (XRE por sus siglas en inglés) y aumenta la transcripción de CYP1. Un estudio reciente⁴⁴ ha demostrado que ARNT es idéntico a la subunidad β del factor inducible por hipoxia (HIF-1 β) y experimentos subsecuentes⁴⁴ han mostrado que ARNT/HIF-1 β es capaz de dimerizarse con la unidad HIF-1 α y que este heterodímero se une al elemento de respuesta a hipoxia (HRE) y modula la expresión de genes regulados por oxígeno como la eritropoyetina (EPO), el factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF), el transportador de hexosas GLUT1 entre otros (esquema 2)⁴⁴.

La regulación de la familia CYP2 está mediada por receptores nucleares relacionados a la superfamilia de receptores de hormonas esteroideas como el receptor constitutivo de androstano (CAR) para CYP2B y el receptor del ácido retinoico (RAR) para CYP2C. Este tipo de regulación también existe para CYP1 y CYP3⁴². Otra familia de factores de transcripción importante es la del factor nuclear de hepatocitos (HNF). Se ha investigado que genes que codifican enzimas de metabolismo de xenobióticos son regulados por HNF1 como por ejemplo:

CYP1A2, CYP2C, CYP2E1, Flavin-Monooxigenasa 1 (FMO), Uridin-glucoronil transferasa (UGT)1 A1, UGT1A7, UGTB1, entre otras y este factor se encuentra expresado en el tejido endodérmico del intestino anterior embrionario ^{45,46}. La regulación de los miembros de la familia CYP2B está mediada por HNF3, este factor de transcripción tiene su expresión más alta en el estómago, seguida del colon y el hígado y juega un papel importante en la diferenciación celular del intestino medio ^{45,46}. Otro factor, HNF-4, también se ha encontrado en el endodermo visceral en etapas tempranas del desarrollo en el intestino posterior y está implicado en la regulación de CYP2A6, CYP2B6, CYP2C9, CYP2D6, CYP3A4 y CYP3A5 ^{45,47}.

CYP1A2 se ha identificado en pequeñas cantidades en tejido pulmonar, laringe, mucosa de intestino delgado, riñón, vejiga urinaria, próstata, placenta y linfocitos de humanos, aunque se ha considerado que su expresión más importante ocurre en el hígado. En ratas de experimentación se ha encontrado RNA mensajero de CYP1A2 en la porción glandular de la mucosa gástrica del estómago, esófago, intestino delgado y colon. Las sustancias que metaboliza CYP1A2 incluyen medicamentos, aminas aromáticas, aminas heterocíclicas, nitrosaminas, micotoxinas, compuestos nitroaromáticos y estrógenos (tabla 2) ^{47,48}.

CYP2B6 pertenece a una subfamilia de los CYPs que se asocia a la respuesta inductora del fenobarbital, medicamento que causa una respuesta inductora a varias subfamilias de CYPs: CYP2B, CYP2A y CYP3A, además de otras enzimas como la epóxido-hidrolasa microsomal, algunas familias de glutatión-S-transferasa

y ADP-glucuronosiltransferasa, tanto en roedores como en primates^{45,49}. En humanos se ha encontrado⁴² que existe de modo constitutivo una cantidad variable, pero significativa, en diferentes tejidos y existe expresión variable e inducible en el hígado, intestino delgado, pulmón, glándulas suprarrenales, riñón y cerebro. Esta enzima participa en el metabolismo de varios compuestos congéneres del fenobarbital (hidantoina, primidona, succinimidas) dexametasona, pesticidas halogenados, productos provenientes de plantas (dialilsulfato, cannabinoides, indoles) y carcinógenos (tabla 3)⁴⁹

CYP2E1 se expresa constitutivamente en el hígado y otros tejidos, lo cual implica funciones endógenas importantes. Esta enzima es la única forma de CYP que se induce por etanol. CYP2E1 metaboliza compuestos pequeños e hidrofóbicos que incluyen varios carcinógenos (tabla 4)⁵⁰ Además CYP2E1 tiene la capacidad de reducir oxígeno molecular a radicales reactivos del oxígeno que pueden iniciar peroxidación de membranas con producción de aldehídos, que a su vez activan la producción de citocinas por linfocitos. La distribución celular de CYP2E1 es variada; se encuentra tanto en el retículo endoplásmico como en la membrana celular y en las vesículas lisosomales. Su expresión ocurre en la región perivenular del hígado, la corteza renal, la mucosa nasal, el pulmón, los testículos, los ovarios, el intestino delgado, el colon y los linfocitos⁵⁰. En el cerebro se encuentra en las células de glia de Bergmann del cerebelo, en células piramidales del hipocampo y de la corteza y en las células dopaminérgicas del cuerpo estriado.

CYP3A4 es el CYP que más se expresa en el hígado humano normal, principalmente en los hepatocitos centrolobulillares y mediozonales. En humanos este CYP se ha encontrado en tejidos extrahepáticos, principalmente en el riñón, duodeno, yeyuno, ileon, estómago, esófago y colon. Se considera que representa el 70% de los CYPs que se expresan en los enterocitos humanos. En otras especies como la rata y el cerdo se ha encontrado RNA mensajero y proteína de esta enzima en estómago normal. También se ha identificado su presencia en la metaplasia intestinal ^{51,52}.

CYP3A4 participa en el metabolismo de compuestos endógenos como estrógenos, prostaglandinas y hormonas esteroides; interviene en la 6 β -hidroxilación de estas hormonas y de los ácidos biliares, retinoides, y otros compuestos fisiológicos. Además tiene un papel muy importante en el metabolismo de medicamentos y xenobióticos en el humano. Esta enzima no tiene una selectividad estructural y es capaz de oxidar moléculas tan diferentes como esteroides, antibióticos macrólidos, ciclosporina, alcaloides de la vinca, hidrocarburos aromáticos policíclicos, etc. (tabla 5). En general los sustratos son grandes (peso molecular > 300) y altamente lipofílicos ^{51,52}.

6. INFLAMACIÓN Y CYP

En humanos y animales, las infecciones o estímulos inflamatorios causan cambios en la actividad y en la expresión de varias formas de CYP tanto en el hígado como

a nivel extrahepático^{53,54}. En general se ha encontrado que en los cultivos de hepatocitos de rata la actividad de las formas individuales de CYP es suprimida por las citocinas inflamatorias, pero en algunos experimentos la actividad de CYPs no se ve afectada o inclusive, puede ser inducida⁵⁵. Al tratar de determinar cuál de las citocinas afecta directamente a los CYPs se ha encontrado que hay diferentes modelos de inflamación que afectan a subgrupos de CYPs, por ejemplo los inductores de IFN que representan probablemente a las infecciones virales, y la endotoxina (LPS) que es un modelo más apropiado para las infecciones bacterianas. El LPS aplicado a ratones en dosis consecutivas por 3 días, suprime la expresión de CYP2C6 sin efecto en la expresión de CYP3A1, 2B1 o 1A2⁵³.

En ratas con granulomas inducidos por carragenina, la expresión de CYP2A, 2B, 2D, 2E1 y 3A1 se afecta de forma diferencial: a los 6 días CYP2D, 2E1 y 3A1 mostraron una recuperación parcial, mientras que la expresión de 2B y la actividad de 2A continuaban en supresión máxima⁵³. Así mismo, existe evidencia que la exposición a LPS aumenta la hepatotoxicidad de xenobióticos, como en el caso de la exposición simultánea a LPS y a tetracloruro de carbono (CCl₄) o a etanol, eventos en los que la lesión hepática se potencia al disminuir la capacidad de eliminación de xenobióticos que pueden tener un efecto tóxico directo. Por otra parte existe una redundancia funcional de las citocinas liberadas durante la inflamación inducida por LPS, lo que hace difícil entender cuál es el efecto de cada citosina sobre la expresión de CYPs⁵⁴. Un modelo estudiado recientemente es el de la deficiencia del gen de IL-6, donde se ha encontrado que esta deficiencia bloquea la supresión de CYP1A2, 2A5 y 3A11 en ratones tratados con turpentina.

La turpentina induce una inflamación estéril vía IL-6 que a diferencia del LPS, causa la liberación de diferentes citocinas como TNF α , IL-1, IL-6, e IFN- γ ⁵⁶.

Aunque muchos estudios han descrito que formas individuales de CYPs disminuyen en expresión o en actividad por varias citocinas en hepatocitos en cultivo, no es muy claro qué efectos son fisiológicamente relevantes por el tiempo de exposición *in vivo*. Esto parece indicar que existen varios mecanismos para la supresión de CYP que afectan a diferentes etapas de la respuesta inflamatoria en los que pueden participar otros mediadores de esta respuesta, como pueden ser los eicosanoides, las hormonas y los factores de crecimiento. Estos efectos pueden tener repercusiones fisiológicas importantes como en la homeostasis de lípidos y la producción y acción de diferentes sustancias como productos reactivos del oxígeno, derivados del óxido nítrico o metabolitos del ácido araquidónico⁵⁶.

Existe muy poca información acerca de los efectos de la inflamación o infección en CYP extrahepático, por ejemplo en pulmón de ratón se ha observado que las infecciones virales disminuyen en 90% la actividad de CYP1A⁵⁴. En otro estudio la aplicación de IFN α causó ligera inducción seguida de supresión de la actividad de CYP1A en los microsomas de pulmón, glándula suprarrenal e hígado de hámsteres y supresión de actividad en los microsomas renales⁵³. El ácido ribonucleico mensajero (RNAm) y la proteína de CYP2E1 se inducen en el riñón de rata después de la inyección de LPS^{53,54}. En el riñón de un modelo murino se encontró deprimida la actividad de CYP1A1 después del tratamiento de 4 días con

poli-ri-poli-rC, al mismo tiempo que la actividad de glándula suprarrenal o mucosa intestinal no cambió ⁵⁴. En el riñón de rata tratado con LPS se ha encontrado inducidas CYP4A y 2E1 ^{54,55}.

La expresión de CYP en el tejido gástrico ha sido motivo de estudio reciente. Se han localizado formas individuales de CYP (CYP3A y CYP1A) en la mucosa gástrica de mamíferos como la rata y el conejo ^{57,58}. Las investigaciones que se han realizado en humanos no son concluyentes y los análisis iniciales ^{36,39,40}, en los cuales se investigaron por hibridación *in situ* pocas muestras (8 muestras de mucosa gástrica humana en el estudio con mayor número de especímenes), se declaró que en la mucosa gástrica humana no hay CYPs. Sin embargo, hay tres estudios recientes que informan acerca de la expresión de CYPs en lesiones de mucosa gástrica; los dos primeros reportan que, por PCR e inmunohistoquímica, se identificaron CYP2E1 y CYP1A2 en la metaplasia intestinal completa e incompleta ^{59,60} y que estos CYPs tienen la capacidad de activar carcinógenos por prueba de Ames, y en el tercero se describe la presencia por inmunohistoquímica de CYP1A y CYP3A en adenocarcinoma ⁶¹.

Los autores de estos tres estudios hacen la inferencia de que la expresión de CYPs aumenta en lesiones precancerosas a pesar de que no investigaron la presencia de CYPs en la mucosa normal ni la gastritis crónica o atrófica. Por otra parte, cuando se expone un sustrato ante un CYP, independientemente del tejido del cuál el CYP provenga, CYP metabolizará el sustrato, y si este sustrato es un carcinógeno que se active por esta reacción, se activará; por lo que extraer

microsomos de mucosa gástrica y realizar prueba de Ames con este purificado, no es prueba directa de que *in situ* se estén llevando a cabo procesos de activación de carcinógenos. Se puede considerar que no se ha realizado un estudio en que, a lo largo de todo el proceso de carcinogénesis gástrica, se haya localizado la expresión de CYPs que metabolizan carcinógenos.

JUSTIFICACIÓN

La carcinogénesis gástrica es un proceso multifactorial y complejo ¹¹. En el adenocarcinoma gástrico de tipo intestinal, la evolución muestra un patrón consistente con un modelo de progresión dependiente del tiempo desde la atrofia epitelial gástrica a la metaplasia, así como de la metaplasia a la displasia y el adenocarcinoma ^{10,11,62}. Esta progresión probablemente refleja la presencia de factores de modulación de un proceso precanceroso que puede ser regresivo en alguna etapa. Como en toda enfermedad progresiva, se ha tratado de establecer un marcador temprano del proceso de carcinogénesis para poder vigilar y prevenir el desarrollo de neoplasia. Hasta el momento no se ha podido encontrar un marcador temprano en el cáncer gástrico, ya que los marcadores biológicos disponibles por el momento sólo demuestran las alteraciones genéticas cuando ya el cáncer está establecido, por ejemplo: mutaciones a nivel del gen p53, pérdida de la heterogenicidad de los genes APC o DCC, o la sobreexpresión de genes específicos tales como c-erb-2 o c-met ^{3,63}.

Otras sustancias que se han tratado de investigar como marcadores son los antígenos de Lewis, la identificación de fosfatasa alcalina gamma y la expresión de sulfomucinas ^{3,18}, sin embargo su presencia no se ha visto correlacionada a lesiones premalignas de forma consistente.

Una característica importante en el desarrollo de cáncer gástrico es la presencia de carcinógenos potenciales en la luz gástrica³⁶. Las enzimas más involucradas

con el metabolismo de estos compuestos son los CYPs, que están relacionados con los mecanismos de oxidación y reducción de sustancias carcinógenas^{30,35}, por lo que conocer su expresión en etapas tempranas del proceso canceroso puede ser un factor que ayude a interpretar la progresión del mismo.

Existe evidencia que los estados inflamatorios pueden modular la presencia de CYP^{52,53,54,55}. La presencia de estas enzimas en los tejidos alterados comparados con los tejidos normales puede ser un marcador de susceptibilidad a toxinas y carcinógenos, especialmente en tejido gastrointestinal, ya que es uno de los sistemas más propensos a la aparición del cáncer. Por lo tanto es justificable la búsqueda de la expresión de estas proteínas para determinar si los cambios en su expresión en lesiones consideradas como premalignas, puedan correlacionarse a los procesos de carcinogénesis gástrica.

HIPÓTESIS

Hipótesis de investigación:

La expresión de CYPs en epitelio gástrico incrementa en las distintas lesiones epiteliales de la mucosa gástrica (gastritis crónica activa, gastritis crónica inactiva, gastritis atrófica, metaplasia intestinal y adenocarcinoma gástrico de tipo intestinal) en comparación con la expresión de la mucosa gástrica normal.

OBJETIVO PRINCIPAL

Identificar la presencia de CYPs en la mucosa gástrica normal y en las diferentes etapas del proceso de carcinogénesis del adenocarcinoma de tipo intestinal.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar y localizar la presencia de las siguientes formas individuales de CYP:

- CYP1A2
- CYP2B6
- CYPE1
- CYP3A4

en la mucosa gástrica normal y en tejidos con las siguientes lesiones:

- Gastritis crónica inactiva
- Gastritis crónica activa
- Gastritis atrófica
- Metaplasia intestinal
- Adenocarcinoma gástrico tipo intestinal

- Analizar la correlación de la presencia de formas individuales de CYP (CYP1A2, CYP2B6, CYPE1, CYP3A4) a la presencia de *Helicobacter pylori*

- Analizar la correlación de la presencia de formas individuales de CYP (CYP1A2, CYP2B6, CYP2C19, CYP3A4) con la historia de ingesta de medicamentos inductores, inhibidores o sustratos de los CYP investigados.
- Analizar la correlación de la presencia de formas individuales de CYP (CYP1A2, CYP2B6, CYP2C19, CYP3A4) al género de los individuos.
- Analizar la correlación de la presencia de formas individuales de CYP (CYP1A2, CYP2B6, CYP2C19, CYP3A4) con el tabaquismo.
- Realizar un análisis de regresión logística por cada CYP para evaluar el efecto de las variables independientes sobre la expresión de CYP.

METODOLOGIA

Se eligieron por método aleatorio 295 muestras de tejidos obtenidos por biopsia endoscópica o cirugía, fijados en formalina e incluidos en parafina, revisados por dos patólogos con protocolo doble ciego para obtener concordancia inter-observacional con los siguientes diagnósticos emitidos por el servicio de Patología del Centro Médico Nacional "20 de Noviembre" ISSSTE, por tinción de hematoxilina y eosina y análisis en microscopía de luz:

▪ Mucosa gástrica normal	51 muestras
▪ Gastritis crónica inactiva	50 muestras
▪ Gastritis crónica activa	50 muestras
▪ Gastritis atrófica	46 muestras
▪ Metaplasia intestinal incompleta	50 muestras
Tipo III	
▪ Adenocarcinoma tipo intestinal	48 muestras

Estos diagnósticos se establecieron en base a criterios especificados en la Clasificación de Sydney para gastritis^{12,13,14}, y en la Clasificación de Lauren para adenocarcinoma gástrico^{7,8} (ver anexo 2).

Como tinción de rutina del Servicio de Patología del Centro Médico Nacional "20 de Noviembre" ISSSTE para la identificación de la presencia de *Helicobacter pylori* se usó tinción de Giemsa en las biopsias gástricas. Esta valoración se hace para

poder establecer un diagnóstico basándose en los criterios de Sydney^{12,13,14}. Diagnósticos no concordantes, así como tejidos insuficientes o contaminados con tejidos no gástricos se excluyeron de participar en el estudio. Para realizar un análisis de factores que influyen en la expresión de CYPs se recopilaron de los expedientes clínicos datos demográficos (edad, género), historia de tabaquismo y uso de medicamentos (anexo 3) de los pacientes de cada muestra incluida.

INMUNOHISTOQUÍMICA

Se eligió la técnica de Inmunohistoquímica para la visualización de los antígenos celulares (CYPs en este caso) por el método de estreptavidina – peroxidasa por su alta sensibilidad. La técnica de tres pasos peroxidasa anti-peroxidasa (PAP) consiste en la aplicación de un anticuerpo primario dirigido a la sustancia en investigación, un anticuerpo de enlace y la formación de un complejo PAP. La tinción se completa con la incubación de un sustrato cromógeno (diaminobenzidina) soluble en alcohol y la contratinción con hematoxilina⁵⁷.

Para aumentar la sensibilidad se desarrolló un método que aprovecha la afinidad de la avidina por la biotina, incrementando la sensibilidad de la detección hasta 20 veces más que los métodos tradicionales PAP^{64,65}. Para evitar falsos positivos se utilizaron pasos de bloqueo de sitios inespecíficos^{66,67} como se detallará más adelante. Se emplearon controles negativos y positivos en cada laminilla para cuidar la validez de la técnica, el control positivo como prueba de sensibilidad (hígado de rata Sprague Dawley macho de 8 semanas de edad) y el control negativo como especificidad (PBS en lugar de anticuerpo primario en una muestra

de tejido). La realización de inmunohistoquímica se realizó en el laboratorio de la Dra. Julieta Rubio Lightbourn, en el Departamento de Medicina Genómica y Toxicología Ambiental del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la UNAM.

La inmunorreactividad a CYP se realizó utilizando anticuerpos policlonales que reconocen CYP1A2, CYP2B6, CYP2E1, y CYP3A de Chemicon Internacional, Inc. Temecula CA., usando la técnica de estreptavidina-peroxidasa. Estos anticuerpos están recomendados para uso en Western blot e Inmunohistoquímica en tejidos congelados ó tratados con formaldehído. Los anticuerpos fueron seleccionados por su especificidad a las enzimas estudiadas:

- Rabbit anti-human cytochrome P450 Enzyme CYP1A2 polyclonal antibody reacciona solamente con la fracción microsomal de CYP1A2 y no tiene reactividad cruzada con otros CYPs. Por Western Blot este anticuerpo reconoce únicamente una proteína de peso molecular de 54KDa.
- Rabbit anti-human cytochrome P450 Enzyme CYP 2B6 and rat CYP2B1/2 polyclonal antibody reacciona con CYP2B6 de la fracción microsomal humana y CYP2B1/2 en la fracción microsomal hepática de rata.
- Rabbit anti-human cytochrome P450 Enzyme CYP 2E1 polyclonal antibody reacciona con CYP2E1 de microsomas humanos y de rata, no tiene reactividad cruzada con otras enzimas de CYPs en estas especies.
- Rabbit anti-human cytochrome P450 Enzyme CYP3A4 polyclonal antibody reacciona con la fracción microsomal hepática, este anticuerpo puede

mostrar reactividad con CYP3A7 (fetal) debido a la homología de secuencia. No tiene reactividad cruzada a otros CYPs.

TÉCNICA:

De los bloques de parafina se cortaron muestras de 5 micras de espesor y se montaron en laminillas para inmunohistoquímica cubiertas con solución de poli-L-lisina al 0.01% (poly-L-lysine solution 0.1% in water Sigma Diagnostics INC).

Las laminillas recubiertas de poli-L-lisina con la muestra de biopsia se desparafinaron y se rehidrataron con un baño de amortiguador de fosfatos (PBS) 1X: 0.01 M pH 7.4 por 30 minutos a temperatura ambiente.

Se hizo el procedimiento de recuperación antigénica^{67,68} con amortiguador de citratos 1X: 10 mM, pH 5.4 en horno de microondas a 750 MHz por dos periodos de 5 minutos con un intervalo de descanso de 1 minuto entre las dos fases de calentamiento.

Las muestras se colocaron en cámara húmeda y se procedió a neutralizar la peroxidasa endógena al añadirles la solución bloqueadora con biotina.

- Solución para bloqueo de peroxidasa endógena

0.3% H₂O₂ + 10 µg/ml d-biotina Sigma (en agua)

Para 1 ml. → 100 µl. de solución de biotina (1 mg/10ml).

100 µl. de peróxido al 30%

100 µl. de PBS 10X
700 µl. de agua

Se cubrieron todos los cortes, dejando incubar 15 minutos a temperatura ambiente, se enjuagó con PBS1X y se dejó en baño de PBS1X por 5 minutos.

Se realizó un procedimiento de bloqueo para sitios inespecíficos con leche descremada al 5% en amortiguador PBS1X dejando incubar 15 minutos a temperatura ambiente, se enjuagó con PBS1X y se dejó en baño de PBS1X por 5 minutos.

Se removió el exceso de líquido y se aplicó la solución de anticuerpo primario en PBS 1X a las siguientes diluciones:

CYP 1A 2 1:500 CYP 2E 1 1:800

CYP 2B 6 1:800 CYP 3A 4 1:800

con testigo positivo (hígado de rata Sprague Dawley macho de 8 semanas de edad) y control negativo (PBS en lugar de anticuerpo primario en una muestra de tejido) en cada laminilla, dejando incubar por 60 minutos a temperatura ambiente, se lavó con PBS1X y se colocó en baño de PBS1X por 5 minutos.

Se sacudió el exceso de líquido y se aplicaron 100 µl del anticuerpo secundario biotilnado (DAKO LSAB+ kit Peroxidase Universal, DAKO CORPORATION, Carpintería, CA. LINK: anticuerpo biotilnado anti-conejo, anti-conejo y anti-cabra: Inmunoglobulinas en PBS conteniendo proteína transportadora y solución 15 mM de azida de sodio) al corte y a los controles, dejando incubar en cámara húmeda

por 15 minutos a temperatura ambiente. Se enjuagó con PBS1X y se dejó en baño de PBS1X por 5 minutos.

La reacción de estreptavidina-peroxidasa se realizó aplicando 100 μ l de la solución de estreptavidina-peroxidasa (DAKO LSAB+ kit Peroxidase Universal, Streptavidin Peroxidase: estreptavidina conjugada a peroxidasa de rábano en PBS conteniendo proteína transportadora y agentes antimicrobianos) dejando incubar en cámara húmeda por 15 minutos a temperatura ambiente, se enjuagó y colocó en PBS1X por 5 minutos.

Para revelar se aplicó la solución de Diaminobenzidina (DAKO Liquid DAB+ Large volume substrate-chromogen solution, DAKO CORPORATION, Carpintería, CA) dejando actuar un máximo de 10 minutos, se detuvo la reacción al lavar con agua bidestilada. Se aplicó hematoxilina de Mayer (Hematoxylin, Mayer's DAKO CORPORATION, Carpintería, CA) para la contratinción, se enjuagaron las laminillas en agua tibia y posteriormente en agua a temperatura ambiente. Se montaron las laminillas con medio de inclusión rápida para microscopia Entellan (Merck KGaA, Germany) y se colocó el cubreobjetos.

Las muestras se examinaron al microscopio de luz a 400X para establecer la presencia y/o ausencia de inmunotinción y su distribución. Como evaluación cualitativa se consideró positiva la tinción cuando se observó la inmunotinción en por lo menos 5% de las células comparándose con el control positivo.

EVALUACION ESTADÍSTICA

1. Cálculo del tamaño de muestra

Se calculó el número de muestra de 50 lesiones por grupo utilizando la fórmula de dos proporciones. Las proporciones seleccionadas para calcular el número de muestra fueron la expresión encontrada de CYP3A4 en tejido normal (0.49) y la expresión de CYP3A4 en cáncer gástrico encontrada por Murray et al (0.23)⁶¹

$$N = \left[\frac{z\alpha \sqrt{2\pi_0(1-\pi_0)} - z\beta \sqrt{\pi_1(1-\pi_1) + (1-\pi_0)}}{\pi_1 - \pi_0} \right]^2$$

N= tamaño necesario para cada grupo

$\alpha = 0.05$ como nivel deseado de significancia.

Potencia: $\beta = 0.2$, $1 - \beta = 0.8$

Diferencia entre las proporciones: $\pi_0 - \pi_1$

2. Evaluación de concordancia de diagnósticos histopatológicos.

Se evaluó la concordancia intertasador de los diagnósticos histopatológicos con la prueba del estadístico Kappa⁶⁹.

El coeficiente de acuerdo Kappa es la proporción de veces que los evaluadores están de acuerdo (corregida por acuerdo aleatorio) a la proporción máxima de veces que los evaluadores podrían concordar (corregida por acuerdo aleatorio)

$$K = \frac{P(A) - P(E)}{1 - P(E)}$$

Donde P(A) es la proporción que los evaluadores concuerdan y P(E) es la proporción esperadas por azar.

3. Evaluación de la diferencia de expresión de cada CYP en la mucosa gástrica normal y por cada lesión de la mucosa gástrica

Para evaluar si las poblaciones son diferentes se evaluó la hipótesis:

H₀: mucosa normal = gastritis crónica activa = gastritis crónica inactiva = gastritis atrófica = metaplasia intestinal = adenocarcinoma gástrico de tipo intestinal

Cuando los datos experimentales consisten en frecuencias en categorías discretas puede utilizarse la prueba de chi cuadrada para evaluar la significación de las diferencias entre los *k* grupos independientes⁶⁹.

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^r \sum_{j=1}^k \frac{(n_{ij} - E_{ij})^2}{E_{ij}}$$

donde:

n_{ij} = número de casos que se categorizaron (observados) en el i -ésimo renglón de la j -ésima columna

E_{ij} = número de casos esperados en el i -ésimo renglón de la j -ésima columna cuando H_0 es verdadera.

Se realizó un procedimiento de partición de los grados de libertad para efectuar un análisis adicional de las tablas de contingencia y poder concluir cuáles son los grupos que difieren de la variable medida. Además se calculó el Intervalo de Confianza 95% (IC95%) del porcentaje de expresión por cada diagnóstico con la fórmula

$$p \pm z_{1-\alpha/2} \sqrt{pq/n}$$

4. Medidas de correlación en la expresión de CYP

Se eligió el coeficiente C de Crámer⁶⁹ como medida del grado de asociación de cada CYP con las siguientes variables por tratarse de información en escala nominal.

- Género: masculino o femenino
- Tabaquismo: positivo o negativo
- Presencia de *Helicobacter pylori*: positivo o negativo
- Inflamación aguda (gastritis crónica activa)
- Ingesta de medicamentos sustratos, inhibidores e inductores de cada CYP
(ver anexo de lista de medicamentos)

Algunas limitaciones del coeficiente de Crámer son que únicamente mide la asociación en una sola dirección y que no resulta comparable con otras medidas de correlación como la r_s de Spearman.

Por estas limitaciones se calculó el coeficiente de correlación r_s de Spearman de rangos ordenados para valorar el grado de asociación de cada CYP con las variables:

- Género: masculino o femenino
- Tabaquismo: positivo o negativo
- Presencia de *Helicobacter pylori*: positivo o negativo
- Inflamación aguda (gastritis crónica activa)
- Ingesta de medicamentos sustratos, inhibidores e inductores de cada CYP (ver anexo de lista de medicamentos)

5. Regresión logística

Se realizó un análisis de regresión logística^{70,71} por cada CYP para evaluar el efecto de las variables independientes en la expresión de CYP.

- Género: masculino o femenino
- Tabaquismo: positivo o negativo
- Presencia de *Helicobacter pylori*: positivo o negativo
- Inflamación aguda (gastritis crónica activa)

- Ingesta de medicamentos sustratos, inhibidores e inductores de cada CYP
(ver anexo de lista de medicamentos)

Para este análisis se utilizó el programa SSPS for Windows versión 8.0.0 (1997) con el cual se efectuó Regresión Secuencial, calculando el valor $-2LL$ ($-2 \log$ likelihood o -2 veces el logaritmo de la verosimilitud) como medida de independencia y la prueba de Hosmer-Lemeshow como medida de bondad de ajuste. Además se interpretó como Razón de Momios (OR) el coeficiente b_j y sus intervalos de confianza al 95%.

RESULTADOS

Se seleccionaron 295 muestras totales del archivo del Servicio de Anatomía Patológica del Centro Médico Nacional "20 de Noviembre" ISSSTE. Se hizo una revisión con un patólogo revisor de los diagnósticos histopatológicos emitidos inicialmente y se seleccionaron sólo las muestras con diagnóstico concordante, basados en la Clasificación de Sydney para gastritis y la Clasificación de Lauren para adenocarcinoma gástrico. La evaluación de la concordancia interasador global se evaluó con el estadístico kappa cuyo resultado fue de 0.82. El estadístico kappa obtenido cada grupo de diagnóstico fue el siguiente:

- Muestras normales: 0.86 (51/59)
- Gastritis crónica activa: 0.92 (55/59)
- Gastritis crónica inactiva: 0.93 (61/66)
- Metaplasia intestinal: 0.90 (50/55)
- Gastritis atrófica: 0.70 (46/65)
- Adenocarcinoma gástrico de tipo intestinal: 0.90 (54/60)

Es importante explicar que el diagnóstico en que se tuvo mayor diferencia diagnóstica fue la atrofia gástrica y esto es debido a varios factores como: la orientación del corte, el edema intersticial y el infiltrado inflamatorio que en ocasiones puede confundir el diagnóstico. En el caso del adenocarcinoma gástrico de tipo intestinal se rechazaron 5 muestras en que la lesión estaba localizada en el cardias y 1 muestra en que la lesión se encontró en la unión de la anastomosis

esófago-gástrica en un paciente al que se le realizó una gastrectomía subtotal con ascenso gástrico por adenocarcinoma del cardias.

El promedio de edad, la distribución por género, porcentaje de tabaquismo y muestras positivas a *H. pylori* mostraron diferentes valores por diagnóstico. No se encontró una diferencia significativa entre la distribución por género de los diferentes grupos ($p = 0.20$), estos datos se muestran en la tabla 6. Para el tabaquismo sí se encontró diferencia significativa entre los grupos ($p = 0.001$). Para el grupo de gastritis crónica activa la diferencia es menor a la esperada ($p = 0.05$) mientras que para la gastritis atrófica y el adenocarcinoma gástrico es mayor ($p = 0.02$ y $p = 0.000$ respectivamente).

- **Análisis para CYP1A2**

En la mucosa gástrica normal las células en que se encontró inmunotinción positiva fueron las células principales en la porción glandular de la mucosa gástrica; en la gastritis crónica activa e inactiva con o sin atrofia, se observó tinción positiva en células principales, miofibroblastos de la lámina propia, células endoteliales y algunos leucocitos. En la metaplasia intestinal se tiñe todo el tejido metaplásico a excepción de las células caliciformes, mientras que en los casos de adenocarcinoma gástrico con inmunotinción positiva, ésta se observa en las células neoplásicas (imagen 1). El porcentaje de muestras que expresan CYP1A2 en los diferentes diagnósticos se muestra en la gráfica 1 y en la tabla 7. Como se puede observar hay un porcentaje más alto de muestras con expresión en la

mucosa gástrica normal que en la mucosa gástrica de otras lesiones, a excepción de la gastritis crónica activa. Estas fluctuaciones en el porcentaje de muestras con expresión positiva no alcanzaron una diferencia estadística significativa al analizarlas con la prueba de chi cuadrada para muestras independientes ($\chi^2 = 4.88$ p = 0.5 grados de libertad 5) pero al realizar un procedimiento de partición de grados de libertad el porcentaje de muestras con expresión en el adenocarcinoma gástrico de tipo intestinal exhibe un porcentaje menor de expresión más baja que alcanza significancia estadística, y como se puede observar el IC 95% de este diagnóstico no se empalma al de los demás (Tabla 7).

Al analizar las correlaciones con la prueba de Crámer no se encontró ninguna correlación significativa (datos no mostrados) sin embargo con la prueba de correlación r_s de Spearman de rangos ordenados se encontró que el tabaquismo mostró una moderada correlación (0.64) con la inmunotinción positiva de CYP1A2 al igual que el género femenino (0.57) y una correlación leve con la presencia de *H. pylori* (0.25) y con la ingesta de medicamentos sustratos (0.15), pero no hubo correlación con la ingesta de inductores de CYP1A2.

El análisis univariado mostró que la presencia de *H. pylori* se asocia a la positividad de la inmunotinción mientras que la ingesta de sustratos es un factor que se asocia a la ausencia de inmunotinción (Tabla 8). Al hacer una comparación de las muestras *H. pylori* positivas contra las negativas (Tablas 9 y 10) se observa que el género femenino se asocia a las muestras CYP1A2 positivas negativas a *H.*

pylori. Otro efecto, que es importante, es que en las muestras CYP1A2 positivas que son negativas a *H. pylori*, existe un porcentaje mayor de sujetos con tabaquismo. Esto significa que el tabaquismo sí es un factor que induce CYP1A2 en la mucosa gástrica en personas en que no hay *H. pylori*, y *H. pylori* parece ser un factor, que independientemente de la inflamación aguda o crónica, se asocia a la expresión de CYP1A2. En el análisis de regresión logística secuencial (Tablas 11 y 12), las variables que muestran una asociación significativa a la positividad a CYP1A2 son: la presencia de *H. pylori* y la presencia de inflamación aguda. La ingesta de sustratos es un factor que se asocia a la ausencia de CYP1A2, y esto parece paradójico.

- **Análisis de CYP2B6**

Al igual que para CYP1A2, en la mucosa normal, las células que tienen inmunotinción positiva son células principales de la porción glandular de la mucosa gástrica. Así mismo, en las gastritis crónicas con o sin atrofia se presentó inmunotinción tanto en células principales como en algunos leucocitos, mas no en los miofibroblastos; en la metaplasia intestinal también hubo tinción positiva aunque de menor intensidad que en las células no metaplásicas, sin haber inmunotinción en las células caliciformes (imagen 2). En las muestras de adenocarcinoma gástrico en que hay tinción positiva, ésta se encuentra en las células cancerosas. El porcentaje de expresión de CYP2B6 por diagnóstico se muestra en la gráfica 2 y con sus IC95% en la tabla 13. Estos datos no muestran una diferencia estadística significativa (prueba de chi cuadrada para k muestras

independientes de dos colas = 9.64 $p = 0.1$ grados de libertad 5). Al hacer la partición de los grados de libertad se encuentra que existe significancia estadística en la baja expresión de CYP2B6 en las muestras de gastritis crónica activa (prueba chi cuadrada de dos colas 5.66 $p = 0.023$, 2 grados de libertad). Cuando se examinan las correlaciones con la prueba de Crámer se encuentra una asociación leve de la expresión de CYP2B6 con el tabaquismo (0.20) y con la presencia de *H. pylori* (0.18). La prueba de correlación r_s de Spearman de rangos ordenados permite apreciar una moderada correlación con género femenino (0.66) y una correlación muy leve con la presencia de *H. pylori* (0.25), la ingesta de sustratos (0.32) y no encuentra correlación con el tabaquismo (0.07)

El análisis univariado (Tabla 14) muestra que la presencia de *H. pylori* y la inflamación crónica son los factores que se asocian negativamente a la inmunotinción de CYP2B6, y al hacer una comparación entre las muestras positivas a *H. pylori* (Tablas 15 y 16) se observa que existe un porcentaje significativo de mujeres CYP2B6 positivas que son negativas a *H. pylori* ($p 0.002$). En la regresión logística condicional (Tablas 17 y 18) se detecta que *H. pylori* es el único factor que afecta la expresión de CYP2B6 independientemente del género y la inflamación ($p 0.0053$).

- **Análisis de CYP2E1**

En las muestras analizadas, las células principales de la porción glandular de la mucosa gástrica normal son las únicas células que expresaron inmunotinción

positiva; en las gastritis crónicas con o sin atrofia la tinción también se presenta en las células principales, miofibroblastos de la lámina propia y leucocitos del infiltrado inflamatorio. En la metaplasia intestinal hay tinción positiva en las células metaplásicas a excepción de las células calciformes y en el adenocarcinoma hay tinción en las células neoplásicas (imagen 3). El porcentaje de distribución de CYP2E1 por diagnóstico y los intervalos de confianza 95% se muestran en la gráfica 3 y en la tabla 19. Como se puede observar los grupos muestran diferencias en la expresión de CYP2E1 con significancia estadística (prueba de chi cuadrada para k muestras independientes de dos colas $77.03 p = 0.001$ grados de libertad 5) con respecto a la expresión de la mucosa normal. Al analizar estas diferencias a través de tablas de partición de chi cuadrada se encuentra que el porcentaje de expresión de las muestras con gastritis crónica activa es significativa (prueba chi cuadrada de dos colas $15.6 p = 0.001$ grados de libertad 2). Así mismo, la expresión en el 100% de las muestras de metaplasia intestinal y en el 23% de las de adenocarcinoma gástrico de tipo intestinal muestran una diferencia estadísticamente significativa (prueba chi cuadrada de dos colas $43.11 p = 0.000$, dos grados de libertad para metaplasia intestinal y prueba chi cuadrada de dos colas $16.93 p = 0.000$, dos grados de libertad para adenocarcinoma gástrico).

La prueba de Crámer demuestra una correlación de 0.59 con *H. pylori*. La prueba de correlación r_s de Spearman de rangos ordenados muestra una correlación moderada para el género femenino (0.53), con la ingesta de sustratos (0.50), con *H. pylori* tiene una correlación inversa moderada (-0.50) y no muestra correlación con el tabaquismo (0.04). El análisis univariado (Tabla 20) indica que la

inflamación crónica y aguda afectan la negativamente la expresión de CYP2E1 (p 0.000 y 0.001 respectivamente). Igualmente, *H. pylori* se asocia de forma negativa a la presencia de CYP2B6 (p 0.006). Al comparar las muestras positivas a *H. pylori* contra las negativas no se encuentra una diferencia significativa (Tablas 21 y 22). A diferencia de CYP1A2 y CYP2B6, la inflamación crónica es la única variable significativa en el análisis de regresión múltiple (p 0.0001) (Tablas 23 y 24).

- Análisis de CYP3A4

En los casos con inmunotinción positiva de la mucosa normal, las células que presentaron inmunotinción positiva son las células principales de la porción glandular de la mucosa gástrica. En las gastritis crónicas hay tinción positiva en las células principales, los miofibroblastos y leucocitos del infiltrado inflamatorio. A excepción de las células calciformes, en la metaplasia intestinal con inmunotinción positiva hay tinción en todas las células metaplásicas (ilustración 4). En el adenocarcinoma gástrico hay tinción en las células neoplásicas. El porcentaje de inmunotinción positiva a CYP3A4 por diagnóstico se muestra en la gráfica 4 y en la tabla 25. Estos porcentajes de inmunopositividad no tienen diferencia estadística significativa entre sí (prueba de chi cuadrada para k muestras independientes de dos colas 4.72 p 0.2 grados de libertad 5).

La prueba de Crámer indica que la presencia de *H. pylori* tiene correlación con la presencia de inmunotinción (0.59). Al aplicar la prueba de correlación r_s de Spearman de rangos ordenados se obtiene una correlación moderada para el

género femenino (0.41) y con la ingesta de sustratos e inductores (0.59 y 0.65 respectivamente). La presencia de *H. pylori* muestra una correlación menor (0.25) al igual que el tabaquismo (0.28).

En el análisis univariado (Tabla 26) se observa que el género femenino se asocia significativamente a la expresión de CYP3A4 (p 0.034) mientras que la presencia de *H. pylori* se asocia de forma negativa (p 0.004), y no se observa que *H. pylori* tenga efecto sobre otros factores (Tablas 27 y 28). La regresión logística (Tablas 29 y 30) nuevamente confirma que el género femenino se asocia a la expresión de CYP3A4 mientras que *H. pylori* se asocia de forma negativa, pero además indica que los inductores pueden tener un efecto, aunque no significativo, pues el intervalo de confianza al 95% incluye el valor nulo.

Como un resumen se puede mencionar que los factores asociados a la expresión inmunohistoquímica que muestran resultados significativos varían entre los diferentes CYPs, por ejemplo, el género femenino es un factor importante para la expresión de CYP3A4, la inflamación aguda para CYP2E1, la presencia de *H. pylori* para CYP1A2, CYP2B6 y CYP3A4, la ingesta de medicamentos inductores de CYP3A4 se asocia de forma positiva a la expresión de CYP3A4 y el tabaquismo podría asociarse a la expresión de CYP1A2.

DISCUSIÓN

Un hallazgo importante de esta tesis es la detección de la expresión de CYPs en la mucosa gástrica normal. Los CYPs que se encontraron en mayor porcentaje de las muestras de mucosa gástrica normal analizadas fueron CYP1A2 (76%) y CYP2E1 (73%), mientras que CYP2B6 se expresó en una menor proporción (59%) así como CYP3A4 (49%). Existen muy pocos estudios previos donde se intentó buscar la presencia de CYPs en mucosa gástrica humana, sin conseguirlo. En el trabajo realizado por De Waziers y colaboradores⁴¹ en 1989 se analizaron sólo dos muestras de tejido gástrico humano de las que se obtuvieron microsomas de homogenizado de tejido fresco y se realizó análisis por inmunoblot para CYP3A4, CYP2E1, CYP2D6 y CYP2C8-10, y únicamente se encontró CYP3A4 en una cantidad muy escasa (4.3% del contenido hepático). McKinnon y colaboradores reportan en 1995 que, también por técnica de inmunoblot, no se logró detectar presencia de CYP3A4/CYP3A5 de microsomas de estómago o de colon, aunque no se define el número de muestras analizadas para el estómago, para el colon fueron 10 muestras de tejido con diagnóstico histopatológico de mucosa normal, obtenido de donadores cadavéricos a los 30 minutos de declaración de muerte³⁶. Es obvio que en estos estudios el número de muestra fue muy limitado y un problema adicional, que particularmente presenta el trabajo de McKinnon, es que la mucosa gástrica sufre una descomposición muy rápida posterior a la muerte y tienen lugar

procesos de lisis celular en los cuales las proteínas son digeridas por proteasas liberadas, lo cual puede interferir en su detección por métodos convencionales.

Puede considerarse controversial que exista un grupo de muestras con diagnóstico de mucosa gástrica normal, y cabe especificar que se clasifica como normal en base a su aspecto histológico¹⁵, en el que no se encontraron signos de inflamación ni presencia de *H. pylori* en el tejido analizado. Es fundamental señalar que en un medio como el de México, en el que se calcula que el 66% de la población⁷² está infectada con esta bacteria, el encontrar una biopsia gástrica que no tenga *H. pylori* se considera raro, sobre todo si a la persona de la que proviene la muestra se le realizó una endoscopia. Muchos médicos tienden a sugestionarse con la idea que la persona debe de tener un proceso inflamatorio, sin embargo existen condiciones como la Dispepsia No Ulcerosa⁷³, en la que existe sintomatología digestiva alta en ausencia de patología estructural, y en el proceso de diagnóstico se debe realizar endoscopia para, precisamente, descartar patología como Úlcera Péptica o Esofagitis. Por otra parte, el tener evidencia serológica de *H. pylori* no es un sinónimo de infección, sino solamente de exposición. Existen personas en las que la infección inicial por *H. pylori* se resuelve de forma espontánea y la apariencia histológica regresa a la normalidad⁷⁴. Esto es particularmente frecuente cuando la infección se adquiere en la niñez como se demuestra en estudio muy interesante, realizado en población infantil México-americana de bajos recursos económicos⁷⁵ en el que se reporta una disminución gradual de la prevalencia por edad: 36% en niños de

4 años, 24% en niños de 5 años, 20% en niños de 6 años y 14% en niños de 7 años; los autores de este estudio concluyeron que la tendencia decreciente en la prevalencia de esta población infantil sugiere que la infección es transitoria en la población pre-escolar. Entre los estudios sobre la prevalencia de infección por *H. pylori* en México, la investigación realizada por Torres et al⁷² se puede considerar la más representativa por el extenso tamaño de muestra, además de incluir todos los grupos de edad, sin embargo es un estudio serológico lo cual no indica una infección activa. Los estudios sobre factores de riesgo para la infección *H. pylori* indican que la edad, el bajo nivel económico y el hacinamiento son los factores más importantes para estar infectado^{76,77}. En relación a la población del presente estudio, se ha considerado a los derechohabientes del ISSSTE como una población relativamente privilegiada, ya que tienen un nivel socioeconómico ligeramente mayor que el de la población general de México.

Otra objeción que se podría plantear es acerca del uso de la tinción de Giemsa como técnica de detección empleada para identificar la presencia de *H. pylori* en las biopsias. En la actualidad se considera que la tinción de Giemsa es igualmente sensible y específica para el reconocimiento de *H. pylori* que las tinciones de plata o inmunohistoquímicas^{78,79}, e incluso se ha planteado en estudios de análisis costo-beneficio que la tinción de Giemsa es superior que la de Warthin-Starry⁸⁰. Algunos autores sugieren que para el diagnóstico de biopsias gástricas no es necesario una tinción adicional para la identificación de *H. pylori*, pues la tinción de hematoxilina y eosina tiene sensibilidad y

especificidad suficiente para la detección hecha por patólogos expertos⁶⁰. Por todas las razones anteriores consideramos que en el grupo de muestras con diagnóstico de normal estudiadas en esta investigación puede sustentarse como válido.

Un concepto que es importante en los procesos de biotransformación es que el metabolismo de xenobióticos para bioactivar compuestos que tienen efectos tóxicos en las células no son llevados a cabo por un sólo tipo de enzima, es decir que no hay metabolismo sustrato-exclusivo. Como ya se sabe, CYP1A2 participa en el metabolismo de carcinógenos provenientes del tabaco como el 2-amino-9-H-piridol (2,3-b) indol (A α C) ó el 2-amino-1-metil-6- fenilimidazol (4,5b) piridina (PhIP)⁴¹ y se ha demostrado que uno de los factores de riesgo para el cáncer gástrico es el tabaquismo^{1, 3,28}. En nuestro estudio, los resultados que obtuvimos muestran que al eliminar el efecto de *H. pylori*, el tabaquismo es un factor que se asocia a la expresión de CYP1A2. Por otra parte no encontramos un efecto del tabaquismo en la expresión de CYP2B6 y CYYP3A4. El efecto del tabaco en la expresión de CYPs ha sido estudiado exhaustivamente. En una investigación realizada por Villiard y colaboradores⁶² se encontró que el efecto del humo de tabaco en la expresión de CYP1A1, CYP2E1, CYP2B1/2 y CYP3A en ratas depende de la duración de la exposición; el contenido de proteína hepática total de CYPs disminuye significativamente tanto con la exposición inmediata (2 días), como por la sostenida (30 días), sin embargo el contenido de CYP1A y CYP3A aumenta por la exposición inmediata y tiende a disminuir a

largo plazo. En contraste, CYP2B1/2 muestra una disminución tanto por la exposición aguda como por la crónica. CYP2E1 tiende a disminuir ligeramente al inicio no de forma significativa, aumenta a la semana y regresa a sus valores iniciales. La expresión en tejido pulmonar también fue examinada por este grupo de investigadores y encontraron a los dos días de tratamiento un incremento en la expresión de CYP1A1, aunque los niveles regresan a valores semejantes a los del grupo control después de 8 días de exposición⁸².

Como se observa en las gráficas 2,3 y 4, la expresión de CYP disminuye en los procesos inflamatorios de la mucosa gástrica. Es muy importante señalar que al comparar los intervalos de confianza al 95%, estos no se intercalan, lo cual nos permite inferir que no se trata de la misma población y que existen factores que modifican la expresión de CYPs en la mucosa gástrica. Al investigar cuál factor se asocia a esta disminución encontramos que el factor más significativo para CYP2E1 es la inflamación crónica mientras que para CYP2B6 y CYP3A4 es *H. pylori*. Es inevitable evaluar si la inflamación y *H. pylori* son factores que se deban considerar como uno solo o deban considerarse como variables separadas.

La infección por *H. pylori* está relacionada a un amplio espectro de padecimientos y se ha sugerido recientemente que el resultado de esta infección está modulado por factores ambientales, tanto polimorfismos bacterianos⁸³ como del huésped^{84,85}. Los dos principales protagonistas: *H. pylori* y la mucosa

gástrica mantienen una comunicación que depende del contacto directo y de la liberación de mediadores solubles. En adultos, la presencia de *H. pylori* induce una respuesta inflamatoria que en su fase de actividad se caracteriza por la infiltración de neutrófilos, linfocitos B y T, los cuales están asociados a un aumento en la concentración de IL-1, IL-6, IL-8, TNF α e IFN γ , (respuesta tipo Th1)^{17,18,86}. Por otra parte, *H. pylori* tiene factores determinantes de virulencia como proteínas localizadas en la membrana externa bacteriana que pueden interactuar directamente con la mucosa gástrica⁸⁷, aunque no se ha explorado el efecto de alguna de estas proteínas en la expresión de CYPs. Recientemente se ha demostrado que *H. pylori* introduce a las células epiteliales de la mucosa gástrica la proteína CagA a través del mecanismo de secreción tipo IV^{88,89}. Además se ha encontrado que CagA se fosforila dentro de la célula e interactúa con sistemas de señalización del hospedero⁸⁸. Esta interacción se asocia a cambios morfológicos semejantes a los que se producen por factores de crecimiento celular y que se ha propuesto contribuyen a la patogénesis del cáncer^{88,89}.

Existen pocos reportes acerca de los cambios de expresión de CYPs de tejido gastrointestinal en procesos inflamatorios y cabe mencionar que en el intestino sólo se ha encontrado que se expresan CYP1A1 y CYP3A4⁹⁰. Entre estos estudios hay uno realizado *in vitro* por Bertilsson y colaboradores⁹¹ en 2000 en el que reportan que en células Caco-2 (línea celular derivada adenocarcinoma de colon en 1977) cultivadas en medio inducido para CYP3A4, existe una

disminución mayor del 20% del RNA mensajero al exponer 24 horas a las células de cultivo con macrófagos ó IFN γ ó IL-6. Además se encontró un efecto sinérgico al exponerlas a macrófagos, IFN γ e IL-6 por el mismo periodo⁹¹. Otra investigación, efectuada por Carrière y colaboradores⁹², en la que se utilizó la cepa TC-7 de células Caco-2, que se considera que está diferenciada hacia enterocitos del intestino delgado (funciones de absorción), reporta que la hipoxia es un factor que induce la expresión de CYP1A1. Ya que la hipoxia puede o no estar relacionada a procesos inflamatorios estos resultados no se pueden vincular a los obtenidos en el presente trabajo, sin embargo es evidente que existen diferencias significativas de la expresión de CYP2E1 y CYP2B6 en la gastritis crónica activa comparadas con la de mucosa normal.

Aunque las citocinas son los elementos más importantes durante los procesos de inflamación que modulan la expresión de CYPs, se ha observado que los factores de crecimiento también pueden intervenir, como por ejemplo el factor de crecimiento epidérmico (EGF) y su receptor (EGFR) que disminuyen la expresión de CYPs⁹³. Durante los procesos de inflamación se activan procesos de reparación de la mucosa en los que las células epiteliales del borde de la mucosa alteran su fenotipo para compensar el daño producido. Se han reconocido dos mecanismos de reparación de la mucosa: la restitución y la regeneración^{94,95}. La restitución epitelial corresponde a la migración celular rápida de las células mucosas del cuello para cubrir los defectos superficiales causados por agentes intraluminales, aunque no es estimulada por agentes

protectores como las prostaglandinas, pero depende de factores como la integridad de la microvasculatura y el flujo sanguíneo mucoso^{94,96}. La regeneración se refiere a la división celular o multiplicación de las células epiteliales, endoteliales y mesenquimatosas. Esta regeneración está regulada por citocinas, factores de crecimiento, hormonas y poliaminas que estimulan el crecimiento y proliferación como el EGF, TGF- β , bFGF y PDGF^{95,96,97,98}, por lo que durante los procesos de regeneración e inflamación es probable que la expresión de CYPs se vea inhibida por estos factores.

La metaplasia intestinal de tipo III es una lesión que se ha considerado como una adaptación al daño persistente de la mucosa gástrica, pero simultáneamente se reconoce también como un factor de predisposición al adenocarcinoma^{10,14}, aunque no se sabe con certeza cuáles son los elementos que contribuyen a este cambio de la mucosa gástrica. Se ha postulado que esté mediado por acción de factores de crecimiento, entre éstos se ha encontrado que los factores Trefoil [específicamente el factor Trefoil del intestino (ITF)] puedan tener un papel en este cambio. Se ha encontrado que los factores Trefoil exhiben una expresión proteica tejido-específica en el tubo digestivo^{99,100}, así mismo, en otra investigación dirigida por Taupin se descubrió que los diferentes genes de los factores Trefoil tienen patrones tejido-específicos de metilación. La demetilación de los promotores y la expresión proteica de ITF están restringidas a las células calciformes de la mucosa colónica (normales y neoplásicas), pero se presenta además en la metaplasia intestinal de la mucosa gástrica¹⁰¹. Es

importante puntualizar que Beck y colaboradores¹⁰² confirmaron en sus investigaciones que los factores Trefoil están bajo regulación transcripcional del Factor Nuclear de hepatocitos-3 (HNF-3). Los factores HNF son importantes en la diferenciación celular de intestino primitivo desde la etapa embrionaria en la que se consideran críticos para la embriogénesis y el desarrollo: HNF-1, HNF-3, HNF-4 y HNF-6^{39,56,103}, igualmente intervienen en la expresión temporal y tejido-específica de proteínas particularmente para los CYPs^{93,104}. Recientemente se ha propuesto que la metaplasia proviene de un proceso epigenético que activa o reprime genes que permiten la diferenciación celular normal^{105,106} y que puede estar relacionado a la metilación aberrante del DNA^{100,107}. Fang y colaboradores¹⁰⁷ han reportado que en adenocarcinoma gástrico existe una disminución de la metilación del DNA en tejido neoplásico y sus alrededores, comparado con mucosa gástrica sin cáncer.

Un dato que llama la atención es la expresión de CYP2E1 en el 100% de las muestras de metaplasia intestinal analizadas. Como en la metaplasia intestinal hay una expresión aberrante de los factores de regulación fenotípica como HNF-1, el cual se ha demostrado que está relacionado con la regulación de la expresión de CYP2E1¹⁰⁴, sería factible que dicho factor estuviera involucrado en esta inducción, por lo que considero que es muy importante, en estudios futuros, poder esclarecer estos mecanismos.

Contrario a lo que se esperaba al inicio del estudio, CYP3A4, que se expresa normalmente en la mucosa intestinal, mostró ser el CYP que se expresó en el menor porcentaje de las muestras de mucosa gástrica analizadas, esto llama la atención particularmente en la metaplasia intestinal. Las fluctuaciones de expresión no fueron significativamente diferentes entre las distintas lesiones, pero sí hubo una asociación de la expresión con el género femenino, con la presencia de *H. pylori* y con la ingesta de inductores. Maurel⁵¹ y Guengerich⁵² consideran que la edad no tiene un efecto en la expresión de CYP3A4, sin embargo cabe aclarar que esta enzima sólo se expresa después del nacimiento, pues en la etapa fetal se expresa CYP3A7 y en el momento del nacimiento hay un cambio de expresión hacia CYP3A4 que se debe a efectos de factores reguladores de la expresión temporal y tejido-específica de los CYPs^{45,82}. En general, sujetos de género femenino presentan niveles proteicos más altos (24%) de esta enzima que los del género masculino, aunque existe una gran variabilidad en la cantidad de proteína encontrada en muestras de microsomas humanos⁴⁴. Cabe señalar que el anticuerpo que se utilizó para detectar CYP3A4 no muestra inmuno-reacción hacia CYP3A5, que es una enzima humana de la familia CYP3A que también puede presentarse tanto en hígado como en otros tejidos, pues la secuencia que se utiliza para preparar el anticuerpo no muestra homología con CYP3A5.

Existen elementos que regulan la expresión de CYP3A4 que no se consideraron en este estudio, como la alimentación. Por ejemplo, la restricción de calorías en

la dieta ha demostrado que aumenta hasta en 257% la expresión de CYP3A4. Si embargo existe información que reporta que la ingestión de lípidos, vitamina A o ácido fólico también produce un incremento de 2.5 veces de enzima^{51,52}. Esto puede ser muy importante en México, donde la dieta tiene un alto contenido de grasa. Otro factor que fue la ingesta de medicamentos y su posible papel como inductores de CYP en la mucosa gástrica. La única asociación significativa se obtuvo con CYP3A4. La falta de asociación puede deberse a varias causas, entre ellas la principal es tal vez, el diseño del trabajo, pues la recopilación de los medicamentos usados por los pacientes se hizo por revisión de los expedientes y esto origina un sesgo de información ya que es muy común que durante el interrogatorio los pacientes no informen todos los medicamentos y sustancias, como vitaminas o compuestos de medicina homeópata o tradicional, que consumen. Así mismo existe la posibilidad de que el metabolismo de primer paso modifique los medicamentos y ya no sean sustrato *in situ* de CYPs que se expresen en mucosa gástrica. Otro sesgo importante es la falta de información completa de exposición a carcinógenos, como el benzo(a)pireno, pues es difícil de evaluar esta exposición desde los datos derivados del expediente clínico. Esto debió de considerarse en el diseño del estudio. Aún así, se puede sospechar que estas fluctuaciones tienen consecuencias en el tratamiento de lesiones gástricas. Los CYPs están involucrados en la mayoría de las reacciones de óxido-reducción de medicamentos y xenobióticos y por esto tienen un impacto crítico en la farmacocinética de estas sustancias. Variaciones en las

actividades de biotransformación pueden alterar la biodisponibilidad o eficacia de medicamentos, e incluso incrementar su toxicidad^{93,108}.

Al encontrar CYPs dentro de las células principales hay que tomar en cuenta las funciones del metabolismo endógeno de estas enzimas como la síntesis de prostaglandinas, las cuales se han considerado como uno de los agentes de citoprotección gástrica más importantes de la mucosa^{109,110}, y el hallazgo de CYPs que intervienen en la síntesis de prostaglandinas apoya la teoría que la producción de prostaglandinas de la mucosa gástrica se lleva a cabo en las células principales ya que se ha propuesto que provienen de los macrófagos, las células endoteliales o las células principales de la mucosa gástrica¹⁰³. Igualmente se ha encontrado una variabilidad muy importante en su producción, la cuál no ha podido ser explicada^{110,111}. Por otro lado se ha demostrado que durante los procesos inflamatorios de la mucosa gástrica disminuyen la concentración de prostaglandinas, el flujo sanguíneo y la secreción de moco y bicarbonato^{109,110,111,112}. Es importante hacer notar que en nuestro estudio encontramos una tendencia a ser menor la proporción de individuos con gastritis que expresan CYPs en comparación con la proporción de expresión de los individuos con mucosa gástrica normal, lo cual es paralelo a la secreción de prostaglandinas en estas condiciones.

En la mucosa gástrica se ha encontrado síntesis *in situ* de prostaglandinas PGE2, PGF2 α y de prostaciclina, estos mediadores intervienen, como ya

mencionó anteriormente, en mecanismos de regulación de la secreción de bicarbonato, de moco y de pepsinógeno, además se ha encontrado que disminuyen la secreción ácida de las células parietales, particularmente la secreción ligada a la estimulación de los receptores de histamina-2^{109,110,111,112}. Otra función fisiológica en que participan las prostaglandinas es el aumento del flujo sanguíneo durante la secreción ácida para adaptar las demandas de energía y mantener la barrera mucosa contra la retrodifusión del ácido del lumen gástrico^{112,113}.

En la población humana existe una variación en la susceptibilidad, tanto a enfermedades, como a la sensibilidad a sustancias químicas^{37,108}. Una de las causas más importantes para comprender esta situación es la heterogeneidad de las vías metabólicas que proceden de las diferencias genéticas o fisiológicas en la población. Existen estudios que han demostrado la variabilidad interindividual de la expresión de formas específicas de CYP hepático que pueden reflejar el grado de variabilidad interindividual del metabolismo¹⁰⁸. A nivel génico, el ser humano presenta diferencias interétnicas e interindividuales debidas al polimorfismo genético de las enzimas de metabolismo de xenobióticos, característica que es una regla más que una excepción y esto puede ser un factor decisivo en la adaptación para la supervivencia de la especie^{37,44,47}.

La variación genética de la expresión fenotípica y / o de la estructura de genes de CYPs que explique la variabilidad interindividual o interracial relacionada a la susceptibilidad a enfermedades es actualmente motivo de estudio, y es necesario comparar fenotipos metabólicos considerando las posibles influencias de medicamentos, pues estas enzimas pueden ser inducidas por sustancias químicas, por lo que se ha propuesto que los sujetos control no deben de ser población de un hospital³⁷, por el sesgo que esto puede dar, este hecho puede notarse en los resultados de la expresión de CYP3A4 que sí se ven afectados por la ingesta de sustancias inductoras, sin embargo, este estudio en particular, sería muy difícil realizarse de otro modo, ya que es muy poco probable que un individuo sin sintomatología gastrointestinal se realice una endoscopia.

Es evidente que por los resultados obtenidos en este estudio, ningún CYP funcionó como marcador de carcinogénesis en el sentido estricto, ya que los cambios que se esperaban encontrar no se presentaron, sin embargo es muy evidente que la variabilidad que se encontró refleja el efecto biológico en los procesos de metabolismo en la mucosa gástrica de la infección por *H. pylori* y de la inflamación. Una aplicación potencial particularmente importante es en la terapia oncológica, ya que se ha encontrado que el estómago es un órgano donde la quimioterapia no resulta efectiva. Uno de los aspectos de esta resistencia a fármacos oncológicos se puede relacionar a la ausencia de CYPs en el tejido neoplásico lo cual puede deberse a dos causas principales: los polimorfismos de enzimas de metabolismo y las alteraciones genéticas que

presentan los tumores en la expresión de estas enzimas¹¹⁴. Dentro de las investigaciones con respecto a este problema se han diseñado sondas génicas que expresan CYPs que se envían a los tejidos neoplásicos que metabolizan los medicamentos *in situ*, obteniendo una respuesta terapéutica con regresión del tumor y mejor supervivencia de los pacientes^{115,116}.

CONCLUSIONES

La hipótesis de investigación resultó falsa dado que en nuestro estudio encontramos que existe una expresión de CYPs en la mucosa gástrica normal y que en general, esta expresión se ve afectada por la presencia de *H. pylori* y la inflamación crónica, que disminuyen de forma significativa el porcentaje de muestras investigadas con expresión positiva, particularmente para CYP2B6 y CYP2E1. Así mismo, por la información derivada de este trabajo, no se puede considerar que la expresión de CYPs sea un indicador positivo de transformación maligna.

Es importante enfatizar que los porcentajes de expresión en tejido neoplásico que encontramos son muy similares al los que reportan Murray y et al ⁶¹, en un estudio en el que no se reporta la presencia de CYPs en otras lesiones gástricas, por lo que su inferencia de un aumento en el tejido de adenocarcinoma gástrico es significativamente cuestionable.

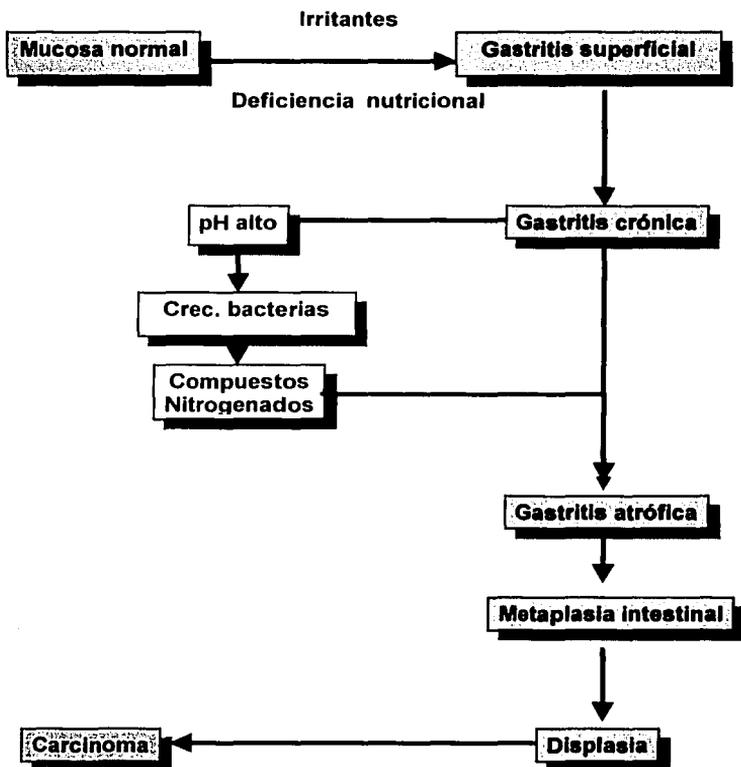
Corroboramos que factores como el género y la ingesta de medicamentos se correlacionan con la expresión de CYP3A4. Por otra parte, un hallazgo muy importante es la asociación de expresión de CYP1A2 con el tabaquismo, independiente de la presencia de *H. pylori*.

Otra observación particularmente interesante es que *H. pylori* se asocia directamente a la falta de expresión de CYP2B6 y CYP3A4 mientras que la

inflamación crónica se asocia a la ausencia de expresión de CYP2E1. En la actualidad se conoce que existen cepas de *H. pylori* que secretan la proteína CagA al interior de la célula y que al fosforilarse, inicia una serie de eventos a nivel intracelular, alterando vías de regulación y sus funciones⁸⁶. Cabe aclarar que no existe hasta este momento un estudio que relacione estas dos condiciones: la internalización de CagA y la ausencia de CYPs.

TABLAS Y FIGURAS

Esquema 1: Hipótesis del desarrollo de cáncer gástrico¹⁰



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 1: Localización cromosómica de genes de CYP y factores regulatorios

CYP	Localización	Inductores	Receptores nucleares
Xenobióticos			
1 A 1	15q22-q24	PAH, TCDD	AhR, ARNT
1 A 2	15q22-q24		AhR, ARNT
1 B 1	1		AhR, ARNT
2 A 6	19q13.1-q13.2	Fenobarbital	HNF-4
2 A 7	19q13.1-q13.2		
2 B 6	19q12-q13.2	Fenobarbital	CAR
2 C 8	10q24.1	Fenobarbital	RAR/RXR
2 C 9	10q24.1	Fenobarbital	RAR/RXR
2 C 18	10q24.1	Fenobarbital	RAR/RXR
2 C 19	10q24.1	Fenobarbital	RAR/RXR
2 D 6	22q13.1		
2 E 1	10q24.3-qter	Etanol, acetona	
2 F 1	19q13.2		
2 J 2			
3 A 4	7q22-qter	DEX, PCN, RIF	GR, PXR
3 A 5 y 7	7q22.17q22.1		
Endógenos			
4 A 9		Clofibrato	PPAR
4 A 11	1	Clofibrato	PPAR
4 B 1	1p12-p34		
4 F 2			
4 F 3			
7	8q11-q12		
11A1	15q23-q4	ACTH (AMPc)	Ad4BP/SF-1
11B1	8q21-q22	ACTH(AMPc)	Ad4BP/SF-1
11B2	8q21-q22		
17	10q24.3	LH	
19	15q21	FSH	
21	6p	ATH	
27	2q33-qter	PTH	VDR

PAH: Hidrocarburos aromáticos

DEX: dexametasona

RIF: rifampicina

PXR: receptor X de pregnano

RXR: receptor X de retinoides

CAR: receptor constitutivo de androstano

PPAR: receptor de proliferadores de peroxisomas activados

HNF-4: factor nuclear de hepatocitos 4

TCDD: 2,3,7-tetraclorodibenzo-p-dioxina

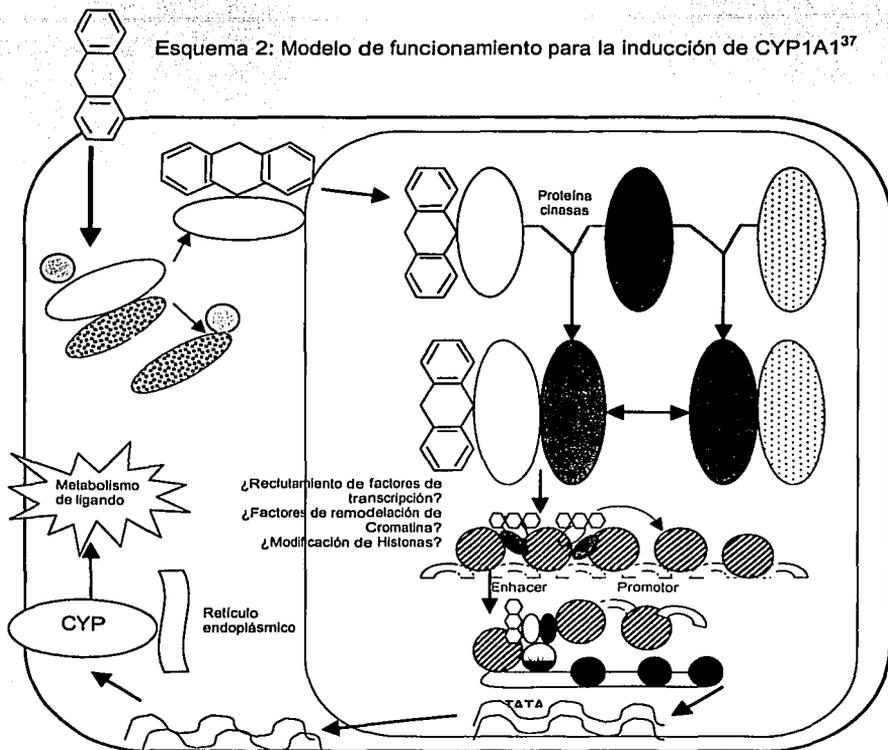
PCN: 16 α carbonitrilo pregnenolona

ACTH: receptor de aril-hidrocarburos

VDR: receptor de vitamina D

RAR: receptor de ácido retinoico

Esquema 2: Modelo de funcionamiento para la inducción de CYP1A³⁷



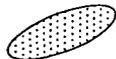
Receptor de Hidrocarburos aromáticos (AhR)



Proteína de choque térmico 90



Translocador nuclear de AhR



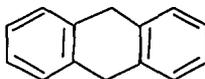
Factor Inducible por hipoxia 1-alfa



Proteína 37 KDa



RNA



Hidrocarburo Aromático policíclico

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

Tabla 2: Sustratos de CYP1A2

Clase química	Sustratos	Tipo de Reacción
Medicamentos	cafeína, teofilina, acetaminofen, nicotina, imipramina	Dealquilación, oxidación en anillo
Aminas aromáticas	2-acetil-aminofluoreno aminoantraceno 2-aminofluoreno	N-oxidación, oxidación en anillo
Aminas heterocíclicas	2-amino 3-metilimidazol quinolina (IQ) 2 amino 3,4 dimetilimidazolquinolina (MellQ) 2 amino 3,8 dimetilimidazolquinoxalina (MellQx)	N-oxidación, oxidación en anillo
Nitrosaminas	4 metilnitrosamino 1-3- piridil-1-butanona	Dealquilación
Micotoxinas	Aflatoxina B1	Epoxidación
Nitroaromáticos	6 nitrocriseno	Epoxidación
Estrógenos	17 beta estradiol	Oxidación en anillo

Tabla 3: Carcinógenos activados por la familia 2B

Procarcinógeno	Especie
Hidrocarburos aromáticos policíclicos	
7,12 dimetilbenz(a)antraceno	Rata
Benzo(a)pireno	Rata
Aminas Aromáticas	
6-aminocriseno	Rata, humano
4,4' metilenebis 2-cloroanilina	Rata
Aflatoxina b1	Rata
Nitrosaminas	
N-nitrosonornicotina	Rata
N-nitrosometil-n-butilamina	Rata
Agentes de Quimioterapia	
Ciclofosfamida	Rata, humano
Adriamicina	rata

Tabla 4: Compuestos sustratos, inductores e inhibidores de CYP2E1

Sustratos	Inductores	Inhibidores
Alcoholes n-butanol, etanol, glicerol, metanol	Alcoholes Etanol, n-butanol, 1,2 butanodiol	Dialilsulfona Dialilsulfato Dehidrocapsaicina
Aldehídos Acetaldehído	Aldehídos Acetaldehído	Disulfiram Dietiltiocarbamato
Alcanos	Hidrocarburos halogenados: Tricloroetileno	Trans-1,2 dicloroetileno
Alquenos		Cis 1,2 dicloroetileno
Hidrocarburos aromáticos policíclicos Benceno, tolueno, xileno	Hidrocarburos aromáticos policíclicos Benceno, xileno	Fenetilisocianato
Éteres Ácidos grasos Ácido linoléico, Ácido araquidónico	Compuestos heterocíclicos Isoniacida, Piridina,	
Anestésicos halogenados Halotano, enflorano, sevoflurano	Imidazoles, Ketoconazol	
Hidrocarburos halogenados Tetracloruro de carbono, Cloroformo, Cloruro de etileno, Cloruro de vinilo, Tricloroetileno.		
Compuestos heterocíclicos Isoniacida, Piridina		
Acetonas Acetaminofen Acilonitrilo Anilina Oxígeno		

Tabla 5: Medicamentos sustratos, inductores e inhibidores de CYP3A4

Sustratos	Inductores	Inhibidores
Antibióticos macrólidos	Rifampicina	Antibióticos macrólidos
Clarithromicina, eritromicina	Troglitazona	Clarithromicina, eritromicina
Antiarrítmicos	Fenitoína	Quinotonas
Quinidina, digitoxina,	Fenobarbital	Ciprofloxacina
propafenona, lidocaina	Carbamacepina	Norfloxacina
Benzodiazepinas	Glucocorticoides	Ofloxacina
Alprazolam, diacepam,	Dexametasona	
midazolam, triazolam	Prednisona	
Inmunomoduladores	Lanzoprazol	Cimetidina
Ciclosporina, tralocimus,	Omeprazol	Jugo de toronja
rapamicina	Cisplatino	
Antivirales	Rifampicina	Antivirales
Indinavir, nelfinavir,		Indinavir, nelfinavir,
ritonavir, saquinavir		ritonavir, saquinavir
Proquinéticos		Antimicóticos azol
Cisaprida		Ketoconazol, Itraconazol
Antihistamínicos		Antidepresivos:
Astemizol, clorferinamina,		Fluoxetina,
terfenidina,		paroxetina,
loratadina		sertralina
Inhibidores de canales del calcio		
Nifedipina, amlodipino,		
diltiacem, felodipino,		
verapamil		
Inhibidores de HMGCoa Reductasa		
Atorvastatina, cerivastatina,		
lovastatina		
Pravastatina		
Esteroides 6 β hidroxí		
Estradiol, hidrocortisona,		
progesterona, testosterona		
Inhibidores de bomba de protones		
Rabeprazol, pantoprazol		
omeprazol,		
lanzoprazol,		
Antidepresivos:		
Fluoxetina,		
paroxetina,		
sertralina		
Otros		
Dapsona, codeína,		
dextrometofan, rifampicina,		
finasterida,		
haloperidol, ondansetron,		
tamoxifen, acetaminofen,		
warfarina		

Tabla 6: Características de los grupos

	Mucosa Gástrica Normal	Gastritis crónica activa	Gastritis crónica inactiva	Atrofia	Metaplasia intestinal	Cáncer	p
Género femenino	70.5% (36/51)	66% (33/50)	64% (32/50)	54% (25/46)	56% (28/50)	48% (23/48)	NS
Género masculino	29.5% (15/51)	34% (17/50)	36% (18/50)	46% (21/46)	44% (22/50)	52% (25/48)	NS
Edad promedio (años)	40.6 (0.25 a 78)	49.3 (18 a 84)	51 (4 a 89)	60.5 (31 a 86)	64 (43 a 83)	55.6 (31 a 83)	NS
<i>Helicobacter pylori</i>	0	78% (39/50)	48% (24/50)	21.7% (10/46)	34% (17/50)	ND	0.000
Tabaquismo	19.6% (10/51)	6% (3/50)	22% (11/50)	32.6% (15/46)	22% (11/50)	41.6% (20/48)	0.001

NS: no significativo, ND: no disponible

Gráfica 1: Expresión inmunohistoquímica de CYP1A2 por lesión

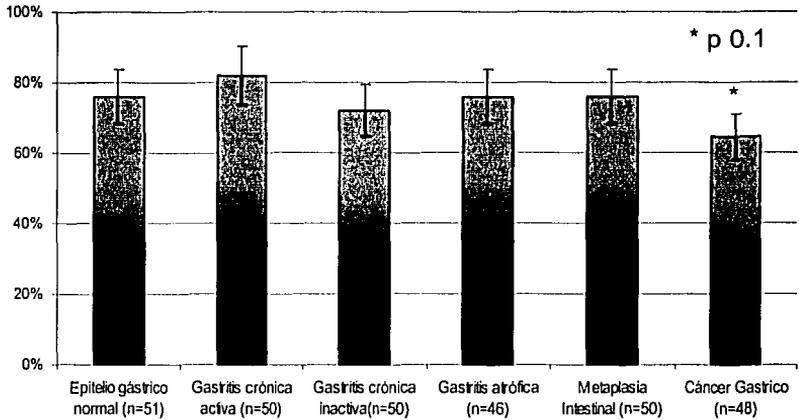


Tabla 7: Porcentaje e Intervalos de Confianza 95% de la expresión de CYP1A2

Diagnóstico	Porcentaje de Expresión	Intervalo de Confianza 95%
Mucosa gástrica normal	76%	0.65 a 0.87
Gastritis crónica activa	82%	0.72 a 0.92
Gastritis crónica inactiva	72%	0.60 a 0.94
Gastritis atrófica	76%	0.64 a 0.88
Metaplasia intestinal	76%	0.65 a 0.87
Adenocarcinoma gástrico de tipo intestinal	65%	0.50 a 0.78

Tabla 8: Análisis univariado para CYP1A2

Variable	Porcentaje	Razón de Momios	Intervalo de confianza 95%		p
			Inferior	Superior	
Género femenino	61.4% (135/220)	.91	.72	1.11	0.413
<i>H. pylori</i>	31.4% (69/220)	1.6	1.2	2.1	0.003
Tabaquismo	35% (77/220)	1.01	.63	1.6	0.949
Inflamación aguda	18.6% (41/220)	1.68	0.77	3.64	0.186
Inflamación crónica	23.6% (52/220)	1.21	0.69	2.13	0.494
Ingesta de sustratos	44.1% (97/220)	.60	.40	.90	0.008

Tabla 9: Comparación de características entre las muestras negativas y positivas a CYP1A2 dependiendo de la presencia de *H. pylori*

	CYP1A2 NEGATIVO		CYP1A2 POSITIVO	
	<i>H. pylori</i> negativo	<i>H. pylori</i> positivo	<i>H. pylori</i> negativo	<i>H. pylori</i> positivo
Género masculino	14.4% (17/118)	13.6% (16/118)	47.5% (56/118)	24.6% (29/118)
Género femenino	11.3% (20/177)	12.4% (42/177)	53.7% (95/177)	22.6% (40/177)
Inflamación aguda	6% (3/50)	12% (6/50)	16% (8/50)	66% (33/50)
Tabaquismo	12.9% (9/70)	12.9% (9/70)	55.7% (39/70)	18.6% (13/70)
Inflamación crónica	9% (9/100)	14% (14/100)	28% (28/100)	49% (49/100)
Ingesta de sustratos	8.5% (10/117)	8.5% (10/117)	54.7% (64/117)	28.2% (33/117)

Tabla 10: Razón de momios e Intervalos de Confianza al 95% univariado para CYP1A2 positivo a *H. pylori*

	OR	Intervalo de confianza 95%	p
Género masculino	1.19	0.92-1.53	0.149
Género femenino	1.28	1.04-1.56	0.007
Inflamación aguda	0.86	0.58-1.26	0.365
Tabaquismo	1.37	0.94-1.99	0.049
Inflamación crónica	0.97	0.77-1.21	0.80
Ingesta de sustratos	1.12	0.93-1.35	0.117

Tabla 11: Regresión Logística para CYP1A2

Variable	B	SE	Wald	GL	significancia	R
Inflamación aguda	-.1.0681	.43	6.011	1	.0142	-.109
<i>Helicobacter pylori</i>	1.1413	.30	14.19	1	.0020	.190
Ingesta de sustratos	-.7874	.21	6.74	1	.0094	-.119
constante	1.4563	.21	46.16	1	.0000	

B: coeficiente logístico SE: error estándar W: estadístico Wald R: correlación

Tabla 12: Razón de Momios e Intervalos de Confianza al 95% de la Regresión Logística para CYP1A2.

Variable	OR	Inferior	Superior
Inflamación aguda	0.343	0.146	0.807
<i>Helicobacter pylori</i>	3.131	1.728	5.670
Sustratos CYP1A2	0.455	0.251	0.824

Gráfica 2: Expresión inmunohistoquímica de CYP2B6 por diagnóstico

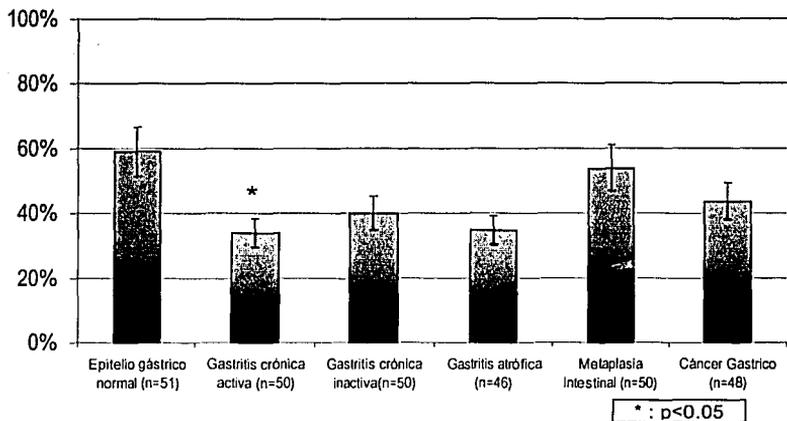


Tabla 13: Porcentaje e Intervalos de Confianza 95% de la expresión de CYP 2B6

<i>Diagnóstico</i>	<i>Porcentaje de Expresión</i>	<i>Intervalo de Confianza 95%</i>
Mucosa gástrica normal	59%	0.46 a 0.72
Gastritis crónica activa	34%	0.24 a 0.44
Gastritis crónica inactiva	40%	0.27 a 0.53
Gastritis atrófica	35%	0.22 a 0.48
Metaplasia intestinal	54%	0.41 a 0.67
Adenocarcinoma gástrico de tipo intestinal	44%	0.29 a 0.59

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 14: Análisis univariado para CYP2B6

Variable	porcentaje	OR	Intervalo de confianza 95%		p
			Inf	Sup.	
Género femenino	59.5% 78/131	1.10	.84	1.22	0.888
<i>H. pylori</i>	27.5% (36/131)	0.49	0.30	0.81	0.005
Inflamación aguda	12.97% (17/131)	0.59	0.31	1.11	0.104
Inflamación crónica	28.2% (37/131)	1.30	0.97	1.74	0.067
Tabaquismo	24.4% (32/131)	1.07	0.62	1.83	0.808
Ingesta de sustratos	15.3% (20/131)	0.95	0.50	1.80	0.890

Tabla 15: Comparación de características entre las muestras negativas y positivas a CYP2B6 dependiendo de la presencia de *H. pylori*

	CYP2B6 NEGATIVO		CYP2B6 POSITIVO	
	<i>H. pylori</i> negativo	<i>H. pylori</i> positivo	<i>H. pylori</i> negativo	<i>H. pylori</i> positivo
Género masculino	30.5% (36/118)	24.6% (29/118)	31.4% (37/118)	13.6% (16/118)
Género femenino	32.2% (57/177)	55.9% (99/177)	32.8% (58/177)	11.3% (20/177)
Inflamación aguda	18% (9/50)	48% (24/50)	4% (2/50)	30% (15/50)
Tabaquismo	34.3% (24/70)	20% (14/70)	34.3% (24/70)	11.4% (8/70)
Inflamación crónica	22% (22/100)	41% (41/100)	15% (15/100)	22% (22/100)
Ingesta de sustratos	26.1% (12/46)	30.4% (14/46)	30.4% (14/46)	13% (6/46)

Tabla 16: Razón de Momios e Intervalo de confianza al 95% para el análisis univariado de CYP2B6 positivo a *H. pylori*

	Riesgo relativo	Intervalo de confianza 95%	p
Género masculino	0.53	0.25-1.15	0.109
Género femenino	1.56	1.04-2.34	0.020
Inflamación aguda	0.47	0.12-1.76	0.210
Tabaquismo	1.37	0.73-1.20	0.288
Inflamación crónica	1.16	0.69-1.94	0.574
Ingesta de sustratos	1.79	0.84-3.83	0.106

Tabla 17: Regresión Múltiple para CYP2B6

Variable	B	SE	Wald	GL	Significancia	R
<i>H. pylori</i>	.700	.251	7.76	1	.0053	.119
Constante	-.328	.125	6.85	1	.008	

B: coeficiente logístico SE: error estándar W: estadístico Wald R: correlación

0

Tabla 18: Razón de Momios e Intervalos de Confianza al 95% para la Regresión Logística de CYP2B6

Variable	OR	Superior	Inferior
<i>H. pylori</i>	2.01	1.23	3.29

Gráfica 3: Expresión inmunohistoquímica de CYP2E1 por lesión gástrica

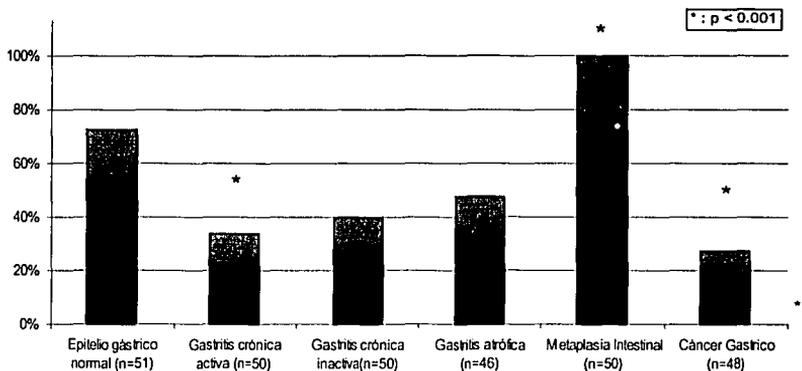


Tabla 19: Porcentaje e Intervalos de Confianza 95% de la expresión de CYP 2E1

<i>Diagnóstico</i>	<i>Porcentaje de Expresión</i>	<i>Intervalo de Confianza 95%</i>
Mucosa gástrica normal	73%	0.61 a 0.85
Gastritis crónica activa	34%	0.21 a 0.47
Gastritis crónica inactiva	40%	0.27 a 0.53
Gastritis atrófica	48%	0.34 a 0.62
Metaplasia intestinal	100%	0.73 a 1
Adenocarcinoma gástrico de tipo intestinal	27%	0.14 a 0.39

Tabla 20: Análisis univariado para CYP2E1

Variable	porcentaje	OR	Intervalo de confianza 95%		p
			Inf	Sup.	
Género femenino	61.5% (99/161)	1.14	0.71	1.83	0.560
<i>H. pylori</i> positivo	29.2% (47/161)	0.50	0.31	0.82	0.006
Inflamación aguda	10.6% (17/161)	0.36	0.19	0.68	0.001
Inflamación crónica	24.2% (39/161)	0.38	0.23	0.62	0.000
Tabaquismo	23% (37/161)	0.91	0.53	1.56	0.741
Ingesta de sustratos	5.6% (9/161)	1.16	0.71	1.89	0.514

Tabla 21: Comparación de características entre las muestras negativas y positivas a CYP2E1 dependiendo de la presencia de *H. pylori*

	CYP2E1 NEGATIVO		CYP2E1 POSITIVO	
	<i>H. pylori</i> negativo	<i>H. pylori</i> positivo	<i>H. pylori</i> negativo	<i>H. pylori</i> positivo
Género masculino	27.1% (32/118)	20.3% (24/117)	34.7% (41/117)	17.8% (21/117)
Género femenino	23.7% (42/177)	20.3% (36/177)	41.2% (73/177)	14.7% (26/177)
Inflamación aguda	18% (9/50)	48% (24/50)	4% (2/50)	30% (15/50)
Tabaquismo	31.4% (22/70)	15.7% (11/70)	37.1% (26/70)	15.7% (11/70)
Inflamación crónica	21% (21/100)	40% (40/100)	16% (16/100)	23% (23/100)
Ingesta de sustratos	21.1% (4/19)	31.6% (6/19)	36.8% (7/19)	10.5% (2/19)

Tabla 22: Razón de Momios e Intervalo de confianza al 95% para el análisis univariado de CYP2E1 positivo a *H. pylori*

	Riesgo relativo	Intervalo de confianza 95%	p
Género masculino	1.20	0.82-1.74	0.316
Género femenino	1.51	1.09-2.09	0.006
Inflamación aguda	2.81	0.53-14.52	0.210
Tabaquismo	0.84	0.30-1.54	0.746
Inflamación crónica	0.75	0.33-1.72	0.505
Ingesta de sustratos	0.19	0.02-1.43	0.096

Tabla 23: Regresión Múltiple Completa para la expresión de CYP2E1

Variable	B	SE	Wald	GL	p	R
Inflamación crónica	0.960	.252	14.441	1	.0001	.175
Constante	0.033	.126	0.068	1	.793	

B: coeficiente logístico SE: error estándar W: Estadístico Wald R: correlación

Tabla 24: Razón de Momios e Intervalos de Confianza al 95% para la Regresión Logística de la expresión de CYP2E1

Variable	OR	Superior	Inferior
Inflamación crónica	2.61	1.59	4.29

Gráfica 4: Expresión inmunohistoquímica de CYP3A4 por lesión gástrica

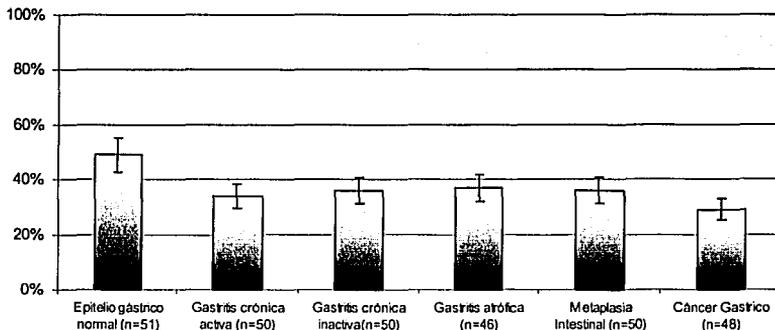


Tabla 25: Porcentaje e Intervalos de Confianza 95% de la expresión de CYP3A4

<i>Diagnóstico</i>	<i>Porcentaje de Expresión</i>	<i>Intervalo de Confianza 95%</i>
Mucosa gástrica normal	49%	0.36 a 0.62
Gastritis crónica activa	34%	0.21 a 0.47
Gastritis crónica inactiva	36%	0.23 a 0.49
Gastritis atrófica	36%	0.23 a 0.51
Metaplasia intestinal	36%	0.23 a 0.49
Adenocarcinoma gástrico de tipo intestinal	29%	0.16 a 0.42

Tabla 26: Análisis univariado para CYP3A4

Variable	porcentaje	OR	Intervalo de confianza 95%		p
			Inf	Sup.	
Género femenino	67.9% (74/109)	1.70	1.03	2.79	0.034
<i>H. pylori</i>	25.7% (28/109)	0.46	0.27	0.78	0.004
Inflamación aguda	15.6% (16/109)	0.85	0.45	1.62	0.635
Inflamación crónica	32.1% (35/109)	0.88	0.53	1.45	0.619
Tabaquismo	22.9% (25/109)	0.93	0.53	1.63	0.806
Ingesta de sustratos	36% (32/109)	0.94	0.56	1.57	0.816
Ingesta de inductores	16.5% (18/109)	0.67	0.36	1.25	0.211

Tabla 27: Comparación de características entre las muestras negativas y positivas a CYP2E1 dependiendo de la presencia de *H. pylori*

	CYP3A4 NEGATIVO		CYP3A4 POSITIVO	
	<i>H. pylori</i> negativo	<i>H. pylori</i> positivo	<i>H. pylori</i> negativo	<i>H. pylori</i> positivo
Género masculino	44.1% (52/118)	26.3% (31/118)	17.8% (21/118)	11.9% (14/118)
Género femenino	31.1% (55/177)	27.1% (48/177)	33.9% (60/177)	7.9% (14/177)
Inflamación aguda	12% (6/50)	54% (27/50)	10% (5/50)	24% (12/50)
Tabaquismo	42.9% (30/70)	21.4% (15/70)	25.7% (18/70)	10% (7/70)
Inflamación crónica	18% (18/100)	47% (47/100)	19% (19/100)	16% (16/100)
Ingesta de sustratos	41.6% (37/89)	22.5% (20/89)	27% (24/89)	9% (8/89)
Ingesta de inductores	50% (30/60)	20% (12/60)	21.7% (13/60)	8.3% (5/60)

Tabla 28: Razón de Momios e Intervalo de confianza al 95% para el análisis univariado de CYP3A4 positivo a *H. pylori*

	Riesgo relativo	Intervalo de confianza 95%	p
Género masculino	1.11	0.49-2.51	0.787
Género femenino	0.26	0.13-0.56	0.000
Inflamación aguda	0.53	0.13-2.54	0.364
Tabaquismo	0.77	0.26-2.26	0.645
Inflamación crónica	0.32	0.13-0.76	0.009
Ingesta de sustratos	0.61	0.23-1.62	0.325
Ingesta de inductores	0.96	0.28-3.28	0.950

Tabla 29: Regresión Múltiple Completa para la expresión de CYP3A4

Variable	B	SE	Wald	GL	p	R
Género	-.555	.258	4.66	1	.0308	-.082
<i>H. pylori</i>	.79	.269	8.71	1	.0031	.131
Ingesta de inductores	.52	.320	2.70	1	.0997	.042
Constante	-.89	.175	25.60	1	.000	

B: coeficiente logístico SE: error estándar W: Estadístico Wald R: correlación

Tabla 30: Razón de Momios e Intervalos de Confianza al 95% para la Regresión Logística de la expresión de CYP3A4.

Variable	OR	Superior	Inferior
Género	0.57	0.34	0.94
<i>H. pylori</i>	2.21	1.30	3.74
Inductores CYP3A4	1.69	0.90	3.18

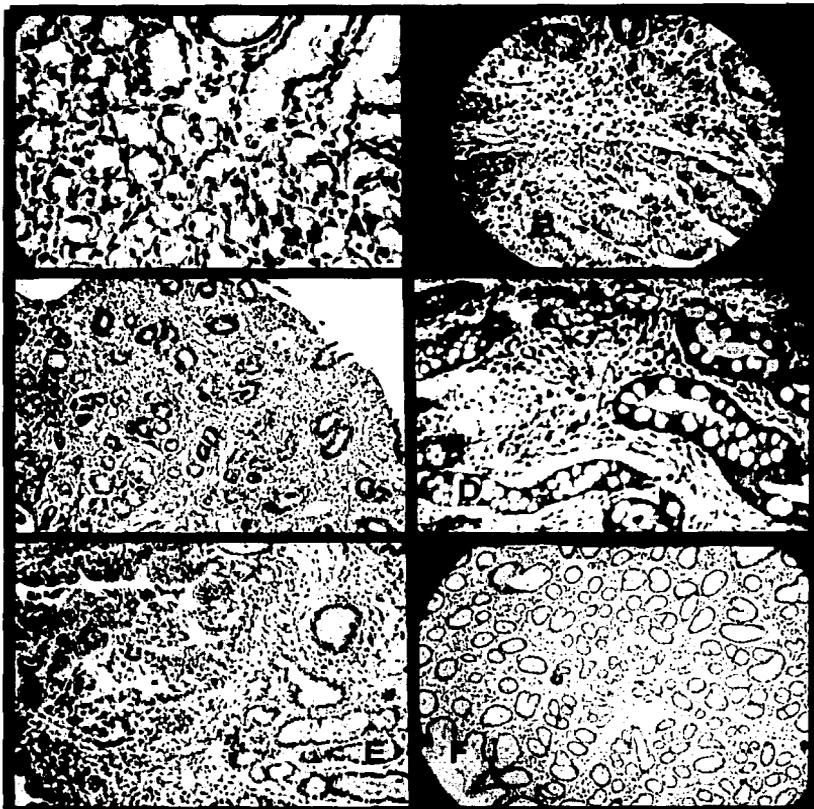


Imagen 1: tejidos con inmunotinción positiva para CYP1A2

A: Mucosa Gástrica Normal (320x)

B: Gastritis Crónica Activa (100x)

C: Gastritis atrófica (100X)

D: Metaplasia Intestinal Tipo III (250X)

E: Adenocarcinoma Gástrico tipo intestinal (100X)

F: Control negativo para CYP1A2 (100X)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

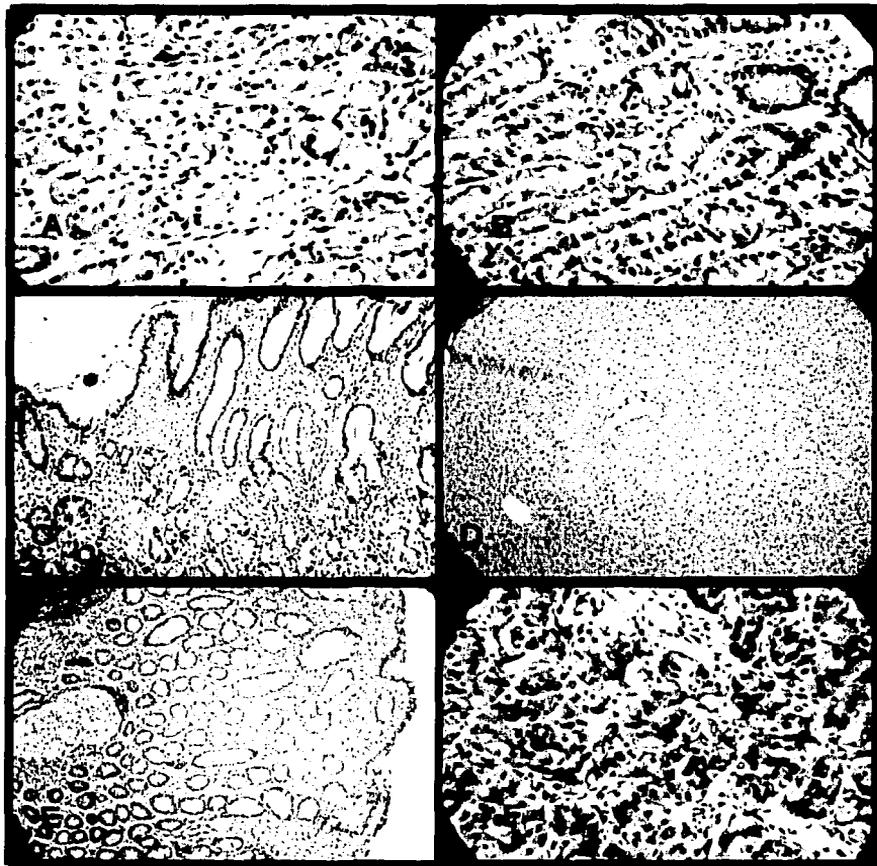


Imagen 2: tejidos con inmunotinción positiva para CYP2B6

A: Mucosa Gástrica Normal (320x)

B: Gastritis Crónica Inactiva (320x)

C: Gastritis Crónica Activa(100X)

D: Metaplasia Intestinal Tipo III (250X) Control negativo para CYP1A2 (100X)

E: Control positivo para CYP2B6 (100X)

F: Adenocarcinoma Gástrico tipo intestinal (320X)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

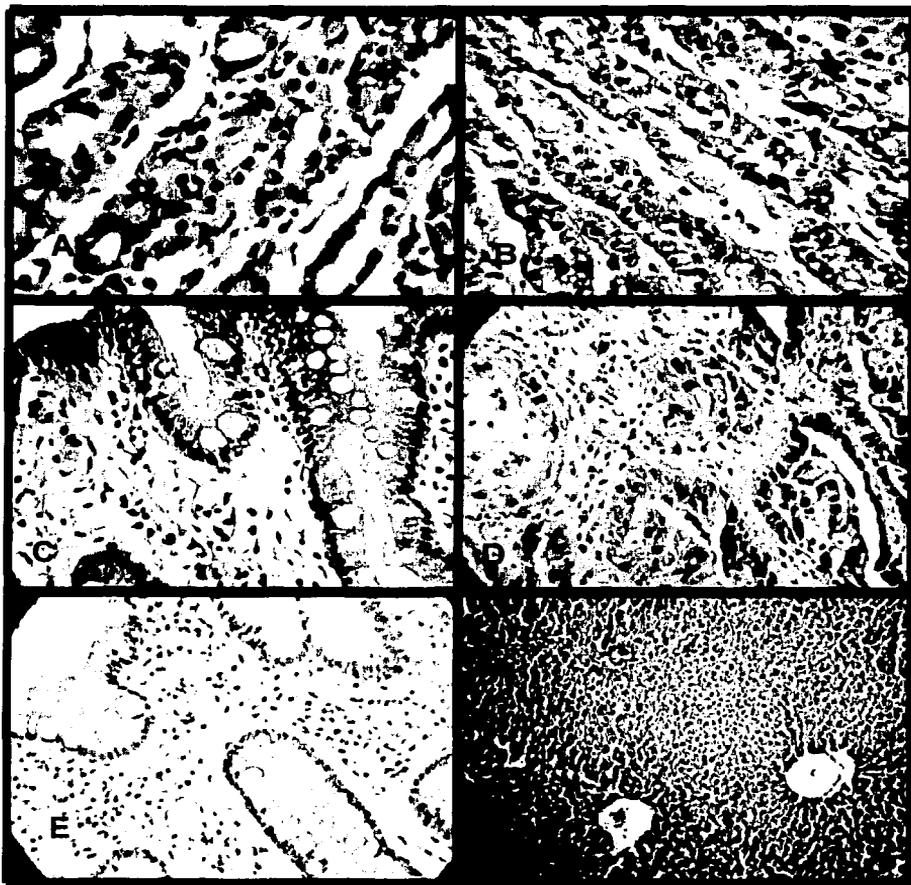


Imagen 3: tejidos con inmunotinción positiva para CYP2E1

- A: Mucosa Gástrica Normal (320x)
- B: Gastritis Crónica Inactiva (320x)
- C: Metaplasia Intestinal Tipo III (320X)
- D: Adenocarcinoma Gástrico tipo intestinal (320X)
- E: Control negativo para CYP2E1 (320X)
- F: Control positivo para CYP2E1 (100X)

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

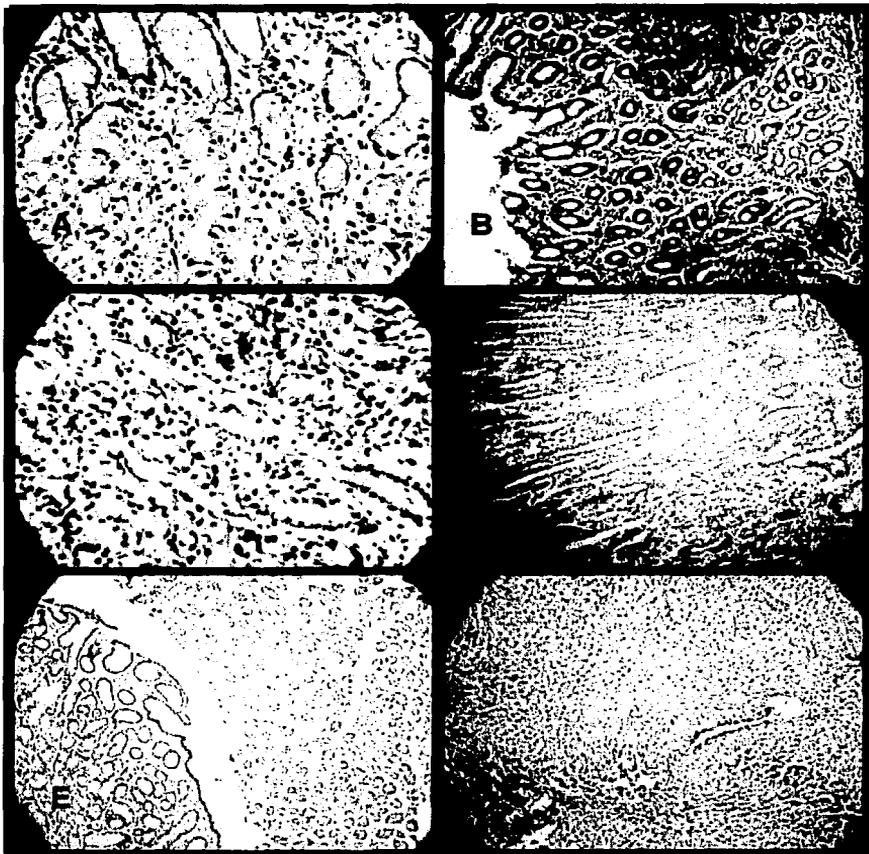


Imagen 4: tejidos con inmunotinción positiva para CYP3A4

- A: Mucosa Gástrica Normal (320x)
- B: Gastritis Crónica Activa (100x)
- C: Gastritis Crónica Activa (320X)
- D: Adenocarcinoma Gástrico tipo intestinal (100X)
- E: Control negativo para CYP3A4 (100X)
- F: Control positivo para CYP3A4 (100X)

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

BIBLIOGRAFÍA

1. Muir CS y Harvey JC: Cancer of the stomach: Overview, del libro Gastric Cancer editado por T. Sugimura y M. Sasako. Oxford University Press, New York pp 3-21,1997
2. Parkin DW, Pisani P, Ferlay J. Estimates of the worldwide incidence of 25 major cancers in 1990. Int J Cancer 80: 827-841, 1999
3. Christian TK, Stadländer H, Waterbor J: Molecular epidemiology, pathogenesis and prevention of gastric cancer. Carcinogenesis 20 (12):2195-2207,1999
4. Gao C, Takezaki T, Wu J et al. Interaction between cytochrome P450 2E1 polymorphisms and environmental factors risk of esophageal and stomach cancers in Chinese. Cancer Epidemiol Biomark Prev 11:29-34,2002
5. Principales Causas de Mortalidad General, Estados Unidos Mexicanos, Estadísticas Vitales de la Secretaría de Salud, 1999
6. Anuario estadístico de la Mortalidad, Secretaria de Salud. México. 2000
7. Tovar-Guzmán V, Hernández-Girón C, Rodríguez-Salgado N et al. Epidemiologic Panorama of Stomach Cancer Mortality in México. Arch Med Res 32 (4):312-17,2001
8. Tahara E. Pathology del libro Gastric Cancer editado por T. Sugimura y M. Sasako. Oxford University Press, New York pp 52-69,1997
9. Japanese Research Society for Gastric Cancer. Japanese Classification of Gastric Carcinoma. 1st English Edition. Kanehara & Co, LTD., Tokyo, 1995 pp: 38-65

10. Stemmermann GN. Intestinal metaplasia of the stomach. *Cancer* 74:556-564, 1994.
11. Correa P. A human model of gastric carcinogenesis. *Cancer Res.* 48:3554-3560, 1988
12. Correa P, Haenzel W, Cuello C, et al. Gastric precancerous process in a high risk population: cohort follow-up. *Cancer Res.* 50:4737-4740, 1990
13. Stolte M, Stadelmann O, Bethke B, Burkard G. Relationship between the degree of *Helicobacter pylori* colonization and the degree and activity of gastritis, surface epithelial degeneration and mucus secretion. *Z Gastroenterol* 33: 532-536, 1995
14. Dixon M, The Components of Gastritis del libro: Gastritis editado por Graham D, Genta R y Dixon M. Lippincott, Williams & Wilkins, Philadelphia pp 51-66, 1999
15. Dixon M, Genta R, Yardley J y Correa P. Classification and Grading of Gastritis. The Updated Sydney System en Gastritis. *Am J Surg Pathol* 20(10):1161-1181, 1996
16. Ernst P, Crowe S y Reyes V. How does *Helicobacter pylori* cause mucosal damage? The inflammatory response. *Gastroenterology* 113:S35-S42, 1997
17. Bamford K, Fan X, Crowe S, et al. Lymphocytes in the human gastric mucosa during *Helicobacter pylori* have a T-helper cell 1 phenotype. *Gastroenterology* 114:482-492, 1998
18. Correa, P, Filipe MI y Torrado J, Gastritis and Gastric Neoplasia del libro Gastritis editado por Graham D, Genta R y Dixon M. Lippincott, Williams & Wilkins, Philadelphia pp 205-216, 1999

19. Felipe MI, Muñoz N, Matko I et al. Intestinal metaplasia types and risk of gastric cancer: a cohort study in Slovenia. *Int J Cancer* 57:324-329,1994
20. IARC Schistosomes, liver flukes and *Helicobacter pylori* monographs on the evaluation of carcinogenic risks to human. Vol 61. Lyon France IARC 1994
21. Huang J, Sridhar S, Chen Y and Hunt R. Meta- analysis of the relationship between *Helicobacter pylori* seropositivity and gastric cancer. *Gastroenterology* 114:1169-79,1998
22. Guarner J, Mohar A, Parsonnet J and Halperin D. The association of *Helicobacter pylori* with gastric cancer and preneoplastic gastric lesion in Chiapas, Mexico. *Cancer* 71:297-301,1993.
23. Lipkin M, Correa P, Milol Y, et al. Proliferative and antigenic modifications in human epithelial cells in chronic atrophic gastritis. *JNCI* 75:613-619,1985
24. Lee A, Fox J and Hazell S. Pathogenicity of *Helicobacter pylori*: a perspective. *Infect Imm* 61:1601-1610,1993
25. Smoot D, Elliot T, Verspaget H et al. Influence of *Helicobacter pylori* on reactive oxygen-induced gastric epithelial cell injury. *Carcinogenesis* 21 (11) 2091-2095,2000
26. Watanabe S, Tsugane S y Yamaguchi N. Etiology del libro Gastric Cancer editado por T. Sugimura y M. Sasako. Oxford University Press, New York pp 33-51,1997
27. Terry P, Nyren O and Yuen J. Protective effect of the fruits and vegetable on stomach cancer in a cohort of Swedish twins. *Int J Cancer* 76:36-37,1998
28. Ye W, Ekström A, Hansson L et al. Tobacco, alcohol and the risk of gastric cancer by subsite and histologic type. *Int J Cancer* 83:223-229, 1999

29. Wu A, Wan P y Bernstein L. A multiethnic population-based study of smoking, alcohol and body size and risk of adenocarcinomas of the stomach and esophagus (Unites States) *Cancer Causes Control* 12: 721-732, 2001
30. López L, Hernández M, Dubrow R. Chili pepper consumption and gastric cancer in México: a case-control study. *Am J Epidemiol* 139: 263-71, 1994
31. Marques S, Oliveira N, Chaveca T, Rueff J. Micronuclei and sister chromatid exchanges induced by capsaicin in human lymphocytes. *Mutat Res* 517:39 – 46, 2000
32. Agrawal RC, Weissler M, Hecker E et al. Tumor promoting effect of chili extract in BALB/c mice. *Int J Cancer* 38:689-695, 1986
33. Surh YJ, Lee S. Capsaicin in Hot Chili Pepper: Carcinogen, co-carcinogen or anticarcinogen. *Food Chem Toxicol* 34 (3) 313-316, 1996
34. Surh YJ, Lee S. Capsaicin, a double-edged sword: toxicity, metabolism, and chemopreventive potential. *Life Sciences*. 56 (22) 1845-1855, 1995.
35. Buiatti E, Palli D, Decarli A et al. A case control study of gastric cancer and diet in Italy. *Int J Cancer* 44:263-271, 1994.
36. McKinnon K, Burgess W, Hall P, et al. Characterization of CYP3A gene subfamily expression in human gastrointestinal tissues. *Gut* 35:259-267, 1995.
37. Lang M y Pelkonen O. Chapter 3. Metabolism of xenobiotics and chemical carcinogenesis del libro *Metabolic Polymorphisms and Susceptibility to Cancer* editado por Ryder W. IARC Scientific Publications No. 148 International Agency of Research in Cancer, Lyon, Francia, pp 13-22 1999

38. Massad L, De Wasierys Y, Ribrag V, et al. Comparison of mouse and human colon tumors with regard to phase I and phase II drug metabolizing enzyme systems. *Cancer Res.* 52:6567-6575, 1992.
39. Watkins PB, Wrighton SA and Schueltz EG: Identification of glucocorticoid-inducible cytochromes P450 in the intestinal mucosa of rats and man. *J Clin Invest* 80:1029-1036, 1987.
40. Hakkola J, Pasanen M, Pelkonen O, et al. Expression of CYP1B1 in human adult and fetal tissues and differential inducibility of CYP1B1 and CYP1A1 by Ah receptors ligands in human placenta and cultures cells. *Carcinogenesis* 18 (2)391-397, 1997.
41. De Waziers I, Cugnenc PH, Yang CS, et al Cytochrome P450 Isoenzymes, Epoxide Hydrolase and Glutathione Transferases in Rat and Human Hepatic and Extrahepatic Tissues. *J Pharmacol Exp Ther* 235 (1)387-394, 1990.
42. Lewis DF. Introduction del libro *Guide to Cytochromes P450: Structure and Function*. Taylor & Francis, New York pp 2-20, 2001
43. Lewis DF. Evolution of the P450 superfamily del libro *Guide to Cytochromes P450: Structure and Function*. Taylor & Francis, New York pp 22-50, 2001
44. Whitlock JP. Induction of cytochrome P4501A1. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 39:103-25, 1999
45. Hines R. Role of Tissue-Selective Transcription Factors in Regulating Xenobiotic Metabolizing Enzymes Syllabi del curso *Alteration in Gene Expression as a Mechanism of toxicant action*. Society of Toxicology 41st. Annual Meeting, Nashville TN, pp 4.1 a 4.21, 2002

46. Tronche F, Ringeisen F, Blumenfeld M et al. Analysis of the distribution of Binding Sites for a Tissue-specific Transcription Factor in the Vertebrate Genome. *J Mol Biol* 266:231-245, 1997
47. Hines RN y McCarver DG. The ontogeny of human drug metabolizing enzymes: Phase I oxidative enzymes. *J Pharmacol Exp. Ther.* in press, 2002
48. Kawajiri K y Hayashi SI. Chapter 4: The CYP1 Family del libro *Cytochromes P450 Metabolic and Toxicological Aspects* editado por Ioannides C. CRC Press, Boca Raton, Florida pp 77-98, 1996
49. Nims RW y Lubet Ra. Chapter 6: the CYP2B Family del libro *Cytochromes P450 Metabolic and Toxicological Aspects* editado por Ioannides C. CRC Press, Boca Raton, Florida pp 135-160, 1996
50. Ronnis MJJ, Lindros KO y Ingelman-Sundberg M. Chapter 9: the CYP2E Family del libro *Cytochromes P450 Metabolic and Toxicological Aspects* editado por Ioannides C. CRC Press, Boca Raton, Florida pp 211-239, 1996
51. Maurel P. Chapter 10: the CYP3A Family del libro *Cytochromes P450 Metabolic and Toxicological Aspects* editado por Ioannides C. CRC Press, Boca Raton, Florida pp 241-269, 1996
52. Guengerich FP. Cytochrome P-450 3A4: Regulation and Role in Drug Metabolism. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 39: 1-17, 1999
53. Morgan ET. Regulation of cytochromes P450 during inflammation and infection. *Drug Metab Rev* 29(4)1129-1188, 1997
54. Morgan ET. Regulation of Cytochrome P450 by inflammatory mediators: why and how? *Drug Metab Dispos* 29 (3) 207-212, 2001

55. Sindhu R, Sakai H, Okamoto T, Kikkawa Y. Differential effect of interleukin-1 α on rat hepatic cytochrome P450 monooxygenases. *Toxicology* 114:37-46, 1996
56. Siewert E, Bort R, Kluge R, Heinrich PC et al. Hepatic Cytochrome P450 down-regulation during aseptic inflammation is interleukin 6 dependent. *Hepatology* 32:49-55, 2000.
57. Traber PG, McDonnell WM, Wang W, Florence R. Expression and regulation of cytochrome P450 genes (CYP1A1 and CYP1A2) in the rat alimentary tract. *Biochim Biophys Acta* 1171 (2):167-75, 1992
58. LeGoascogne C, Sananes N, Eychenne B et al. Androgen biosynthesis in the stomach: expression of cytochrome P450 17-alpha-hydroxylase / 17, 20 lyase messenger ribonucleic acid and protein, and metabolism of pregnolone and progesterone by parietal cells of the rat gastric mucosa. *Endocrinology* 136(4):1744-52, 1995
59. Tatemichi M, Nomura S, Ogura T, et al. Mutagenic Activation of Environmental Carcinogens by Microsomes of Gastric Mucosa with Intestinal Metaplasia. *Cancer Res* 59:3893-3898, 1999
60. Yosoke T, Kakikim, Horie T et al. Expression of cytochrome P4503A4 in Foveolar Epithelium with Intestinal Metaplasia of the Human Stomach. *Jpn J Cancer Res* 89 (10):1028-32, 1998
61. Murray GI, Taylor MC, Burke MD, Melvin WT. Enhanced expression of cytochrome P450 in stomach cancer. *Br J Cancer* 77(7) 1040-1044, 1998

62. Genta R. Helicobacter pylori, inflammation, mucosal damage and apoptosis: pathogenesis and definition of gastric atrophy. *Gastroenterology* 113:S51-S55,1997.
63. Wu M, Shung C, Wang H, et al. Genetic alterations in gastric cancer: relation to histological subtypes, tumor stage and Helicobacter pylori infection. *Gastroenterology* 112:1257-1265,1997
64. Côte SL, Ribeiro-Da-Silva A y Cuello C. Current Protocols for Light Microscopy Immunocytochemistry del libro Immunohistochemistry II editado por Cuello AC. IBRO Handbook Series John Wiley & Sons, New Cork, pp 147-168, 1993
65. Hsu SM. The use of the Avidin-Biotin Interaction in Immunocytochemistry. del libro Immunohistochemistry II editado por Cuello AC. IBRO Handbook Series John Wiley & Sons, New Cork, pp 1169-180, 1993
66. Hsu S, Raine L, Fanger H. Use of Avidin-Biotin-Peroxidase Complex (ABC) in Immunoperoxidase Techniques: a comparison between ABC and U labeled Antibody (PAP) Procedures. *J Histochem Cytochem.* 1981 Apr;29(4):577-80.
67. Taylor CR, Shi SR, Chaiwun B, Young L, Imam SA, Cote RJ. Strategies for improving the immunohistochemical staining of various intranuclear prognostic markers in formalin-paraffin sections: androgen receptor, estrogen receptor, progesterone receptor, p53 protein, proliferating cell nuclear antigen, and Ki-67 antigen revealed by antigen retrieval techniques. *Hum Pathol* 1994 Mar;25(3):263-70

68. Shi SR, Cote RJ, Taylor CR Antigen retrieval immunohistochemistry: past, present, and future. *J Histochem Cytochem* 1997 Mar;45(3):327-43
69. Siegel S, Castellan NJ. Estadística No Paramétrica aplicada a las ciencias de la conducta. Cuarta Edición 1995. (reimpresión 2001) México, Editorial Trillas
70. Feinstein AR. Multivariable Analysis: an introduction. First Edition, 1996 Yale University Press, New Haven & London.
71. Glantz SA, Slinker BK. Primer of Applied Regression & Analysis of Variance. Second Edition, 2001, McGraw-Hill, Inc, New York
72. Torres J, Leal- Herrera Torres J, Leal- Herrera , Pérez-Pérez G et al. A community-based seroepidemiologic study of *Helicobacter pylori* infection in Mexico. *J Infect Dis* 1198:178:1089-94
73. Vakil N. Treatment options for functional dyspepsia. *Dig Dis.* 2001;19(3):240-3
74. Sobala G, Schorah C, Shires S et al. Acute *Helicobacter pylori* infection: clinical features, local and systemic immune response, gastric mucosal histology and gastric juice ascorbic acid concentrations. *Gut*, 32:1415-1418, 1991
75. Redlinger T, O'Rourke K, Goodman K. Age distribution of *Helicobacter pylori* seroprevalence among young children in a United States/Mexico border community: evidence of transitory infection. *Am J Epidemiol* 150:225-230,1999

76. Jimenez-Guerra F, Shetty P, Kurpad A. Prevalence and risk factors for *Helicobacter pylori* infection in school children in Mexico. *Ann Epidemiol* 10(7) 474,2000
77. Woodward M, Morrison C, McColl K. An investigation into factors associated with *Helicobacter pylori* infection, *J Clin Epidemiol* 53:175-181,2000
78. Raica M, Grigoras AM, Miutescu GE. Clinical value of *Helicobacter pylori* identification by histochemical methods in patients with chronic gastritis. *Rom J Morphol Embryol* 42:117-121, 1996
79. Simor AE, Cooter NB, Low DE. Comparison of four stains and a urease test for rapid detection of *Helicobacter pylori* in gastric biopsies. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 9:350-352,1990
80. Kolts BE, Joseph B, Achem SR et al. *Helicobacter pylori* detection: a quality and cost analysis. *Am J Gastroenterol* 88:650-355, 1993
81. Lewis DF. Substrate selectivity and metabolism del libro *Guide to Cytochromes P450: Structure and Function*. Taylor & Francis, New York pp 77-117, 2001
82. Villiard PH, Seree EM, Re JL et al. Effects of tobacco smoke on the gene expression of the *Cyp1a*, *Cyp2b*, *Cyp2e*, and *Cyp3a* subfamilies in mouse liver and lung: relation to single strand breaks of DNA. *Toxicol App Pharmacol* 148: 195-204, 1998
83. Parsonnet J, Friedman JD, Orentreich N, Vogelmann H. Risk for gastric cancer in people with CAgA positive or CagA negative *Helicobacter pylori* infection. *Gut* 40:297-301,1997

84. El-Omar EM, Carrington M, Chow W et al. Interleukin 1 polymorphisms associated with increased risk of gastric cancer, *Nature* 404:398-402, 2000
85. Zambon CF, Basso D, Navaglia F et al. *Helicobacter pylori* virulence genes and host IL-1RN and IL-1 β genes interplay in favoring the development of peptic ulcer and intestinal metaplasia. *Cytokine* 18:242-251, 2002
86. Israel DA & Peek M. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* induced gastric inflammation. *Aliment Pharmacol Ther* 15:1271-1290, 2001
87. Yamaoka K, Kwon DH, Graham DY. A Mr 34,000 proinflammatory outer membrane protein (oipA) of *Helicobacter pylori*. *Proc Natl Acad Sci USA* 97:7533-7538, 2000
88. Odenbreit S, Püls J, Sedlmaier B et al. Translocation of *Helicobacter pylori* CAgA into gastric epithelial cells by type IV secretion. *Science* 287:1497, 2000.
89. Higashi H, Tsutsumi R, Muto S et al. SHP-2 tyrosine phosphatase as an intracellular target of *Helicobacter pylori* CAgA protein. *Science* 295, 683-685, 2002
90. Carriere V, Chambaz J, Rousset M. Intestinal responses to xenobiotics. *Toxicology in Vitro* 15: 373-378, 2001
91. Bertilsson PM, Olsson P, Magnusson KE. Cytokines influence mRNA expression of Cytochrome P450 and MDRI in Intestinal Cells. *J Pharma Sci* 90:638-646, 2001
92. Carriere V, Rodolosse A, Lacasa M, et al. Hypoxia and CYP1A1 induction-dependent regulation of proteins involved in glucosa utilization in Caco-2 cells. *Am J Physiol* 274 (Gastrointest Liver Physiol 37) G1101-1108, 1998

93. Morgan ET, Sewer MB, Iber H et al. Physiocal and pathophysiological regulation of Cytochrome P450. *Drug Metab Dispos* 29 (12) 1232-1240
94. Lacy ER. Rapid Epithelial Restitution in the Stomach. *Scand J Gastroenterol*. 30: Suppl 210:6-8, 1995
95. Modlin IM, Hunt RH. Critical Reappraisal of Mucosal Repair Mechanism. *Scand J Gastroetnerol* 30 Suppl 210:28-31,1995
96. Terano A, Sakata-Horie K, Shimada T et al. The role of cellular migration in the repair process of gastric epithelial cells. *Life Sci* 69:3083-3089, 2001
97. Podolsky DK. Mucosal Immunity and Inflammation V. Innate mechanisms of mucosal defense and repair: the best offense is a good defense. *Am J Physiol* 277(Gastrointest Liver Physiol 3) G:495-G499, 1999
98. Basson M. In vitro evidence for matrix regulation of intestinal epithelial biology during mucosal healing. *Life Sci* 69:3005-30018, 2001
99. Wong WM, Poulosom R, Wright NA. Trefoil peptides. *Gut* 44(6):890-895, 1999
100. Ribieras S, Lefèvre O, Tomasetto C, Rio MC. Mouse Trefoil genes: genomic organization, sequences and methylation analices. *Gene* 266:65-75,2001
101. Taupin D, Pedersen J, Familiari M et al. Augmented Intestinal Trefoil Factor (TFF3) and Loss of PS2 (TFF1) Expression Precedes Metaplastic Differentiation of Gastric Epithelium. *Lab Invest* 81:397-408,2001
102. Beck S, Sommer P, Dos Santos Silva E, et al. Hepatocyte Nuclear Factor 3 (Winged Helix Domain) activates Trefoil factor gene TFF1 through a binding motif adjacent to the TATA box. *DNA Cell Biol* 18:157-164, 1999

103. Bossenmeyer-Purie C, Kannan R, Ribieras S, et al. The trefoil factor 1 participates in gastrointestinal cell differentiation by delaying G1-S phase transition and reducing apoptosis. *J Cell Biol* 157 (5) 761-770,2001
104. Tronche F, Ringeisen F, Blumenfeld M et al. Analysis of the distribution of binding sites for a Tissue-specific Transcription Factor in the Vertebrate Genome. *J Mol Biol* 266:231-245,1997
105. Sugimura T, Ushijima T. Genetic and epigenetic alterations in carcinogenesis. *Mutation Res.* 462:235-246,2000
106. Slack JMW. Stem Cells in Epithelial Tissues. *Science* 287:1431-1433,2000
107. Fang JY y Xiao SD. Alteration of DNA methylation in gastrointestinal carcinogenesis. *J Gastroenterol Hepatol* 16:960-968,2001
108. Snawder JE, Lipscomb JC. Interindividual Variance of Cytochrome P450 Forms in Human Hepatic Microsomes: Correlation of Individual Forms with Xenobiotic Metabolism and Implications in Risk Assessment. *Reg Toxicol Pharmacol* 32:200-209,2000
109. Tepperman B y Jackson ED. Circulatory Factors in Gastric Mucosal Defense and Repair. Del libro *Physiology of the Gastrointestinal Tract 3rd Edition* editado por Leonard R Johnson. Raven Press, New York 1994 pp 1331-1351
110. Wallace JL. Mechanisms of Protection and Healing: Current Knowledge and Future Research. *Am J Med* 110(1A): 19S-23S, 2001

111. Whittle BJR y Vane JR. Prostanoids as regulators of gastrointestinal function. Del libro Physiology of the Gastrointestinal Tract 3rd Edition editado por Leonard R Johnson. Raven Press, New York 1994 pp 143-180
112. Atay S, Tarnawski A, Dubois A. Eicosanoids and the Stomach. Prostaglandin Lip Med 61: 105-124, 2000
113. Phillipson M, Atuma C, Henriksnäs J, Holms L. The importance of mucus layers and bicarbonate transport in preservation of gastric juxtamucosal pH. Am J Physiol (Gastrointest-Liver) 282:G211-G219,2002
114. Iyer L y Ratain MJ. Pharmacogenetics and Cancer Chemotherapy. European Journal of Cancer 34(10) 1493-1499,1998
115. Löhr M, Hoffmeyer A, Kröger JC et al. Microencapsulated cell-mediated treatment of inoperable pancreatic carcinoma. Lancet 357(9268):1591-1592, 2001
116. Cytochrome P450 Gene-directed Enzyme Prodrug Therapy (GDEPT) for Cancer. Curr Pharm Des 8(15):1405-1416,2002
117. Rozman K, Klaassen CD. Absorption, distribution, and excretion of toxicants de libro Casarett & Douls Toxicology: the basic science of poisons 5th edition editado por Klaassen CD, McGraw-Hill Companies, New York, 1996 pp 91-111
118. Rendic S. Human P450 metabolism data base, de la página electrónica de BD Gentest Discovery Labware, Inc. BD Biosciences <http://www.gentest.com/index.html>

ANEXO 1: LA MUCOSA GÁSTRICA NORMAL COMO RESERVORIO CELULAR.

Muchos medicamentos se acumulan en tejidos diversos tales como el músculo, el hueso y el tejido adiposo, alcanzando concentraciones más elevadas que en el espacio extracelular, por lo que se consideran reservorios transcelulares¹¹⁷.

Los medicamentos también pueden cruzar la barrera epitelial del tracto gastrointestinal y acumularse en estas células convirtiéndose en reservorios. Con respecto al estómago se tienen las siguientes consideraciones:

- La mucosa gástrica no tiene funciones de absorción, como otros epitelios del tracto gastrointestinal, en particular los del duodeno, yeyuno, ileon y colon.
- La única absorción que puede presentar el epitelio gástrico normal es debido a difusión pasiva.
- Las sustancias que pueden difundir hacia la mucosa gástrica son bases débiles, liposolubles, no ionizadas.
- Los medicamentos o sustancias que son bases débiles tienen la posibilidad de concentrarse pasivamente en el estómago por un gradiente en el pH, pues el pH gástrico es ácido (fluctúa entre 1 y 2).
- Los medicamentos inductores de CYP (por ejemplo fenobarbital, nifedipina, alendazol, etc) son ácidos débiles, por lo que no se concentran en células epiteliales gástricas y no tienen por que ser inductores de CYP a este nivel.

- El pH en el que un ácido o base orgánicas están ionizados al 50% se llama pKa o pKb respectivamente y se define como el logaritmo negativo de la constante de ionización de un ácido o base orgánicos. Por ejemplo, un ácido orgánico como el ácido acético con pKa 4.7 (pKa bajo) es un ácido más fuerte que el ácido carbónico con pKa 6.1 (pKa alto). Lo opuesto es cierto para las bases. A continuación se proporciona una lista de medicamentos (ácidos orgánicos) con su respectivo pKa ⁹⁵:

Medicamento pKa	pKa	Medicamento	
◆ Acetaminofen	9.5	Amitriptilina	9.4
◆ Amobarbital	7.9	Anfetamina	9.8
◆ Cafeína	13	Clorpromazina	9.3
◆ Cumarina	5.7	Fenobarbital	7.4
◆ Fenitoína	7.3	Salicilatos	3.2
◆ Tetraciclina	7.7	Teofilina	0.7

ANEXO 2: CLASIFICACIÓN DE SYDNEY PARA GASTRITIS y CLASIFICACIÓN DE LAUREN PARA ADENOCARCINOMA GÁSTRICO.

La Clasificación de Sydney (1990) se elaboró para eliminar la confusión diagnóstica de la gastritis y poder establecer lineamientos para la clasificación y grado de la gastritis, así como para poder relacionar patrones de inflamación y atrofia de la mucosa gástrica con otras enfermedades. Esta clasificación fue modificada en una reunión mundial de patólogos interesados en el tema cuatro años después en Houston (1994) para identificar, definir y resolver los problemas asociados a la escala original de Sydney. Algunas veces estos patrones tienen la suficiente consistencia para predecir la enfermedad ulcerosa o el riesgo de cáncer gástrico, por lo que fue la intención de los autores hacer una escala estandarizada reproducible escogiendo como diseño una escala análoga visual ^{13,14,15}.

Las variables que se utilizan en esta escala son las siguientes: densidad de *Helicobacter pylori*, infiltrado de neutrófilos, infiltrado de células mononucleares, atrofia de la mucosa gástrica y presencia de metaplasia intestinal^{12,13,14}. Las variaciones de *Helicobacter pylori* tienen importancia epidemiológica con relación a su asociación con otras enfermedades, se considera grado 1 encontrar *Helicobacter pylori* en escasa cantidad; en el grado 2 se halla moderada cantidad de *Helicobacter pylori*, en el grado 3 se encuentran agregados de *Helicobacter pylori* en forma continua, lo que indica una colonización marcada del epitelio.

La medición de la actividad inflamatoria se define como la densidad de infiltrado de neutrófilos en un entorno de inflamación crónica. Esta actividad es un fenómeno universal de la infección por *H. pylori* y se correlaciona con la proporción de daño a la mucosa^{12,14,15} por metabolitos reactivos del oxígeno y proteasas provenientes de los neutrófilos y con la intensidad de la infección por *H. pylori*. Estos neutrófilos pueden estar localizados en la lámina propia^{12,13,14} dentro del epitelio^{12,14} (particularmente en la región del cuello de la glándula) y en la luz de las foveolas^{13,16}, donde inclusive pueden formar pequeños abscesos. Los neutrófilos son un indicador muy sensible de la infección por *H. pylori* y se ha comprobado que desaparecen a los pocos días de la erradicación de la infección¹⁵. Se aconseja que si en una biopsia control postratamiento se encuentran neutrófilos se debe de hacer una búsqueda cuidadosa de *H. pylori*¹⁵.

Se considera Inflamación Crónica al infiltrado mononuclear y se asocia con la respuesta inmune del huésped^{16,17}. En la mucosa gástrica normal existen pocos leucocitos mononucleares y se considera que debe de haber un máximo de 2 a 5 linfocitos, células plasmáticas y macrófagos por campo seco fuerte (400x). La densidad de las células mononucleares en la lámina propia debe de valorarse en áreas alejadas de folículos linfoides y la zona marginal de linfocitos pequeños. El evaluar la intensidad del infiltrado inflamatorio crónico da una medida basal con la que se pueden comparar resultados de tratamiento, sin embargo se ha reportado que este infiltrado desaparece de forma lenta y puede pasar un año antes de que desaparezca^{13,14,15}.

La atrofia se considera como la pérdida de tejido glandular y conlleva a un adelgazamiento de la mucosa que permite la ulceración. Para poder graduar este parámetro se debe demostrar una disminución de la profundidad de la cripta y del componente glandular, así como reemplazo de criptas y glándulas por tejido de la lámina propia. La metaplasia intestinal es común en la gastritis crónica de todas las causas y se reconoce por la presencia de células calciformes, células con borde en cepillo, células semejantes a colonocitos y el tipo de mucina que contienen. La metaplasia intestinal se ha clasificado en completa e incompleta^{9,12,13,14}. La de tipo completa o I se caracteriza por tener células con sialomucinas intercaladas entre células absorptivas con un borde en cepillo bien delineado. El tipo incompleto se divide en dos, el II en el cual las células calciformes que contienen sialomucinas son escasas entre células gástricas que contienen mucinas neutras y distorsión glandular leve, y la de tipo III que se caracteriza por glándulas tortuosas y con ramificaciones que están cubiertas por células columnares altas que contienen abundantes sulfomucinas .

La clasificación de Lauren^{7,8} describe dos prototipos de adenocarcinoma gástrico por imagen y sitio de tumor: el intestinal y el difuso. Esta clasificación ha sido utilizada en numerosos estudios epidemiológicos y se ha encontrado que el adenocarcinoma de tipo intestinal es más frecuente en países de alto riesgo para adenocarcinoma gástrico, es más frecuente en el género masculino, el promedio de edad de diagnóstico es de 55 años y su localización más frecuente es al antro

gástrico. El adenocarcinoma de tipo difuso es más frecuente en sujetos jóvenes, no muestra predilección por género y se encuentra en la parte media del estómago.

El adenocarcinoma de tipo intestinal es un tumor glandular. Está compuesto por células foveolares, mucopépticas, columnar intestinal o células caliciformes. El carcinoma de tipo intestinal se asocia a la presencia de metaplasia intestinal de tipo III y tiene un grado de diferenciación variable, las células bien diferenciadas son columnares y secretoras de mucina, mientras que las pobremente diferenciadas presentan un patrón sólido. Tienen reactividad a queratina y antígeno carcinoembrionario.

El carcinoma difuso presenta microscópicamente un crecimiento difuso de células malignas con fibrosis e inflamación con participación de toda la pared, hay escasas formaciones glandulares y las células crecen de forma individual. La mucina es intraplasmática y puede dar un aspecto de célula en anillo de sello, las células son anaplásicas y muestran un pleomorfismo intenso, los núcleos son alargados e hiper cromáticos con abundantes mitosis.

ANEXO 3

Listado de Medicamentos o Sustancias Químicas Sustratos, Inductores o Inhibidores de Citocromos P450 que fueron revisadas en los expedientes de los casos incluidos en este estudio^{14,48,49,50,51,52,118}

Citocromo	Categoría	Medicamento	Tipo
1A2	Beta bloqueador	Bufuralol	sustrato
1A2	Estrógeno	Estradiol, 17beta-	sustrato
1A2	Anticonvulsivo	Carbamazepina	sustrato
1A2	Antineoplásico Antiestrógeno	Toremifene	sustrato
1A2	Anticoagulante	Warfarina	sustrato
1A2	Antisecretor antagonista H2	Ranitidina	sustrato
1A2	Antineoplásico Nitrosoarea	Tauromustina	sustrato
1A2	Agente anti-insomnio	Zolpidem	sustrato
	Imidazopiridina		
1A2	Antiinflamatorio AINE inhibidor COX 2	Etoricoxib	sustrato
1A2	Antiinflamatorio AINE	Diclofenaco	sustrato
1A2	Antiinflamatorio AINE	Naproxen	sustrato
1A2	Antipsicótico fenotiazina	Clorpromazina	sustrato
1A2	Antidepresivo Tricíclico	Doxepin	sustrato
1A2	Antidepresivo inhibidor de la recaptura de serotonina	Fluoxetina	sustrato
1A2	Antidepresivo antagonista selectivo alfa-2	Mirtazapine	sustrato
1A2	Antineoplásico Fluoropirimidina	Tegafur	sustrato
1A2	Antipsicótico fenotiazínico	Perfenazina	sustrato
1A2	Antiagregante plaquetario	Cilostazol	sustrato
1A2	Antidepresivo Tricíclico	Imipramina	sustrato
1A2	Anticoagulante	Acenocoumarol	sustrato
1A2	Antiarrítmico	Amiodarona	sustrato
1A2	Antidepresivo inhibidor MAO	Selegiline	sustrato
1A2	Antihistamínico antagonista H1	Azelastine	sustrato
1A2	Anestésico local	Bupivacaina	sustrato
1A2	Antineoplásico Alquilante	Dacarbazina	sustrato
1A2	Antipsicótico antagonista receptor Dopamina D2 y serotonina 2 (5-HT2)	Zotepine	sustrato
1A2	Antimigrañoso agonista receptor 5-HT1B/1D	Zolmitriptan	sustrato
1A2	Inhibidor canales de calcio	Verapamil	sustrato
1A2	Broncodilatador Xantina	Teofilina	sustrato
1A2	inhibidor fosfodiesterasa tipo 5 cGMP-especifico	Sildenafil (Viagra)	sustrato
1A2	Ansiolítico bendodicepina	Flunitrazepam	sustrato

1A2	Beta bloqueador	Propranolol	sustrato
1A2	Antiemético antagonista 5-HT3	Ondansetron	sustrato
1A2	Procinético agonista 5-HT4	Cisaprida	sustrato
1A2	Antineoplásico, Antiandrogeno	Flutamide	sustrato
1A2	Antineoplásico Antimitótico, Podofilotoxina	Etoposide	sustrato
1A2	Antihipertensivo, agonista alfa 2- Adrenérgico	Guanabenz	sustrato
1A2	Antiarrítmico	Mexiletina	sustrato
1A2	Antiarrítmico	Propafenona	sustrato
1A2	Antiinflamatorio AINE	Acetaminofen	sustrato
1A2	Anestésico General	Propofol	sustrato
1A2	Anestésico Local	Lidocaina	sustrato
1A2	Anthelmintico Benzimidazol	Albendazol	sustrato
1A2	Antibiótico Fluoroquinolona	Pefloxacina	sustrato
1A2	Antidepresivo Tetracíclico	Mianserina	sustrato
1A2	Antidepresivo Tricíclico	Clomipramina	sustrato
1A2	Antidepresivo Tricíclico	Desimipramina	sustrato
1A2	Antidepresivo Tricíclico	Nortriptilina	sustrato
1A2	Antihistaminico antagonista H1	Flunarizina	sustrato
1A2	Antihistaminico antagonista H1	Cinazina	sustrato
1A2	Anestésico General	Propofol	Inhibidor
1A2	Anestésico Local	Lidocaina	Inhibidor
1A2	Broncodilatador antileucotrieno	Zafirlukast	Inhibidor
1A2	Antibiótico Quinolona	Ácido Nalidíxico	Inhibidor
1A2	Antibiótico Quinolona	Ácido	Inhibidor
1A2	Antibiótico Quinolona	Pipemidico	Inhibidor
1A2	Antibiótico Quinolona	Amifloxacina	Inhibidor
1A2	Antibiótico Quinolona	Ciprofloxacina	Inhibidor
1A2	Antibiótico Quinolona	Difloxacina	Inhibidor
1A2	Antibiótico Quinolona	Enoxacina	Inhibidor
1A2	Antibiótico Quinolona	Lomefloxacina	Inhibidor
1A2	Antibiótico Quinolona	Ofloxacina	Inhibidor
1A2	Antibiótico Quinolona	Pefloxacina	Inhibidor
1A2	Antibiótico Quinolona	Norfloxacina	Inhibidor
1A2	Antibiótico Quinolona	Levofloxacina	Inhibidor
1A2	Antidepresivo antagonista selectivo alfa-2	Mirtazapine	Inhibidor
1A2	Antidepresivo inhibidor MAO	Moclobemide	Inhibidor
1A2	Antidepresivo Tricíclico	Imipramina	Inhibidor
1A2	Antimicótico imidazol	Ketoconazole	Inhibidor
1A2	Antineoplásico, Antiandrogeno	Flutamide	Inhibidor
1A2	Antipsicótico fenotiazinico	Perfenazina	Inhibidor
1A2	Beta bloqueador	Propranolol	Inhibidor
1A2	Antiarrítmico	Amiodarona	Inhibidor
1A2	Antiarrítmico	Mexiletina	Inhibidor

Citocromo	Categoría	Medicamento	Tipo
1A2	Inhibidor canales de calcio	Nifedipina	Inhibidor
1A2	Antisecretor antagonista H2	cimetidina	Inhibidor
1A2	Antidepresivo inhibidor de la recaptura de serotonina	Citalopram	Inhibidor
1A2	Antiagregante plaquetario	Ticlopidine	Inhibidor
1A2	Antagonista receptor Angiotensina II	Losartan	Inhibidor
1A2	Antagonista receptor Angiotensina II	Irbesartan	Inhibidor
1A2	Inhibidor canales de calcio	Verapamil	Inhibidor
1A2	Antidepresivo inhibidor MAO	Selegiline	Inhibidor
1A2	Antiemético antagonista 5-HT3	Ondansetron	Inhibidor
1A2	Ansiolítico benzodiacepina	Midazolam	Inhibidor
1A2	Procinético agonista 5HT4	Tegaserod	Inhibidor
2B6	Analgésico	Diclofenaco	Sustrato
2B6	Analgésico	Antipirina	Sustrato
2B6	Opioide	Etil morfina	Sustrato
2B6	Anestésico Halogenado	Halotano	Sustrato
2B6	Anestésico local	Lidocaina	Sustrato
2B6	Anestésico halogenado	Metoxiflourano	Sustrato
2B6	Anestésico halogenado	Sevoflourano	Sustrato
2B6	Antidepresivo Tetracíclico	Brupopion	Sustrato
2B6	Antidepresivo tetracíclico	Mianserina	Sustrato
2B6	Antidepresivo tricíclico	Amitriptilina	Sustrato
2B6	Antidepresivo inhibidor recaptura serotonina	Sertralina	Sustrato
2B6	Anticonvulsivo	Valproato	Sustrato
2B6	Anticonvulsivo hidantoinico	Fenitoina	Sustrato
2B6	Anticonvulsivo barbitúrico	Mefobarbital	Sustrato
2B6	Antihistaminico piperazina	Cinarazina	Sustrato
2B6	Antihistaminico fenotiacinico	Prometazina	Sustrato
2B6	Antipalúdico	Arteeter	Sustrato
2B6	Antineoplásico alquilante	Ciclofosfamida	Sustrato
2B6	Antineoplásico alquilante	Ifosfamida	Sustrato
2B6	Antineoplásico alquilante	Trofosfamida	Sustrato
2B6	Antiviral inhibidor transcriptasa reversa	Nevirapina	Sustrato
2B6	Antiviral inhibidor transcriptasa reversa	Efavirenz	Sustrato
2B6	Ansiolítico benzodiacepina	Diacepam	Sustrato
2B6	Ansiolítico benzodiacepina	Temacepam	Sustrato
2B6	Ansiolítico benzodiacepina	Midazolam	Sustrato
2B6	Antitusivo	Dextrometorfan	Sustrato
2B6	Procinético agonista 5HT4	Cisaprida	Sustrato
2B6	Anticoagulante	Coumarina	Sustrato
2B6	Esteroides andrógeno anabólico	Testosterona	Sustrato

Citocromo	Categoría	Medicamento	Tipo
2B6	Antipsicótico inhibidor dopamina	Zotepina	Sustrato
2B6	Antibiótico macrólido	Eritromicina	Sustrato
2B6	Esteroides estrógeno	Estrona	Sustrato
2B6	Esteroides estrógeno	Estradiol	Sustrato
2B6	Antineoplásico antiestrógeno	Tamoxifen	Sustrato
2B6	Inhibidor canales de calcio	Verapamil	Sustrato
2B6	Antidepresivo inhibidor de la recaptura de serotonina	Fluvoxamina	Inhibidor
2B6	Antidepresivo inhibidor de la recaptura de serotonina	Paroxetina	Inhibidor
2B6	Antidepresivo inhibidor MAO	Selegilina	Inhibidor
2B6	Antitiroideo	Metimazole	Inhibidor
2B6	Antimuscarínico amina terciaria	Orfenadrina	Inhibidor
2B6	Inhibidor canales de calcio	Arandipina	Inhibidor
2B6	Inhibidor canales de calcio	Barnidipina	Inhibidor
2B6	Antihistamínico inhibidor H1	Dimetilazalastina	Inhibidor
2B6	Antimicótico imidazol	Ketonazol	Inhibidor
2B6	Antiarrítmico	Amiodarona	Inhibidor
2B6	Antineoplásico antiestrógeno	Tamoxifen	Inhibidor
2B6	Anticonceptivo estrógeno	Etinilestradiol	Inhibidor
2B6	Antidepresivo inhibidor recaptura 5HT	Sertralina	Inhibidor
2B6	Vitamina liposoluble	Retinol vitamina A	Inhibidor
2B6	Vitamina liposoluble	Colecalciferol Vit D3	Inhibidor
2B6	Antiviral inhibidor transcriptasa reversa	Etavirenz	Inhibidor
2B6	Antiviral inhibidor proteasa	Nelfinavir	Inhibidor
2B6	Antiviral inhibidor proteasa	Ritonavir	Inhibidor
2B6	Anticonvulsivo hidantoína	Fenitoína	Inductor
2B6	Glucocorticoide	Dexametasona	Inductor
2B6	Hipolipemiente	Clofibrato	Inductor
2B6	Antineoplásico alquilante	Ciclofosfamida	Inductor
2B6	Antiviral inhibidor transcriptasa reversa	Nevirapina	Inductor
2B6	Antibiótico antituberculoso	Rifampicina	Inductor
2B6	Hipoglucemiante tiazolidinediona	Troglitazona	Inductor
2E1	Anestésico halogenado	Enflurano	Sustrato
2E1	Anestésico halogenado	Halotano	Sustrato
2E1	Anestésico halogenado	Metoxiflourano	Sustrato
2E1	Anestésico halogenado	Sevoflourano	Sustrato
2E1	Antibiótico heterocíclico	Isoniacida	Sustrato

Citocromo	Categoría	Medicamento	Tipo
2E1	Analgésico	Acetaminofen	Sustrato
2E1	Alcohol	Etanol	Sustrato
2E1	Alcohol	Glicerol	Sustrato
2E1	Alcohol	Metanol	Sustrato
2E1	Alcohol	Propanol	Sustrato
2E1	Otros compuestos	Cafeína	Sustrato
2E1	Antitiroideo	Metimazole	Inhibidor
2E1	Analgésico AINE	Diclofenaco	Inhibidor
2E1	Analgésico AINE	Acido Flufenámico	Inhibidor
2E1	Analgésico Inhibidor COX2	Etoricoxib	Inhibidor
2E1	Anestésico General	Propofol	Inhibidor
2E1	Antidepresivo tricíclico	Amitriptilina	Inhibidor
2E1	Antidepresivo tricíclico	Imipramina	Inhibidor
2E1	Antidepresivo tricíclico	Nortriptilina	Inhibidor
2E1	Antimicótico Imidazol	Clotrimazole	Inhibidor
2E1	Antimicótico Imidazol	Miconazol	Inhibidor
2E1	Antimicótico Imidazol	Bifonazole	Inhibidor
2E1	Antipsicótico fenotiacinico	Clorpromacina	Inhibidor
2E1	Antipsicótico fenotiacinico	Flufenacina	Inhibidor
2E1	Antipsicótico fenotiacinico	Tioridazina	Inhibidor
2E1	Antipsicótico antagonista dopamina D2	Tioperidona	Inhibidor
2E1	Ansiolítico benzodiazepina	Flunacepam	Inhibidor
2E1	Ansiolítico benzodiazepina	Medazepam	Inhibidor
2E1	Antisecretor inhibidor H2	Cimetidina	Inhibidor
2E1	Relajante muscular	Cloroxazona	Inhibidor
2E1	Antineoplásico	Oltipraz	Inhibidor
2E1	Antidepresivo IMAO	Selegilina	Inhibidor
2E1	Antibiótico antituberculoso	Isoniacida	Inductor
2E1	Agente dermatológico	Ácido Retinoico	Inductor
2E1	Alcohol	Etanol	Inductor
2E1	Antigota	Colchicina	Inductor
2E1	Antimicótico imidazol	Ketononazol	Inductor
3A4	Analgésico AINE	Acetaminofen	Sustrato
3A4	Analgésico agonista narcótico	Alfentanil	Sustrato
3A4	Ansiolítico benzodiazepina	Alprazolam	Sustrato
3A4	Antiarrítmico	Amiodarona	Sustrato
3A4	Antidepresivo tricíclico	Amitriptilina	Sustrato
3A4	Antihistaminico selectivo H2	Astemizol	Sustrato
3A4	Hipolipemiente estatina	Atorvastatina	Sustrato
3A4	Glucocorticoide	Budesonida	Sustrato
3A4	Antiepiléptico	Carbamacepina	Sustrato

Citocromo	Categoría	Medicamento	Tipo
3A4	Antibiótico macrólido	Clarithromicina	Sustrato
3A4	Antiagregante plaquetario	Clopidogrel	Sustrato
3A4	Antipsicótico inhibidor de los receptores de seotonina	Clozapine	Sustrato
3A4	Procinético	Cisaprida	Sustrato
3A4	Antitusivo narcótico	Codeína	Sustrato
3A4	Antigotoso inhibidor de la mitosis derivado alcaloide	Colchicina	Sustrato
3A4	Glucocorticoide	Cortisol	Sustrato
3A4	Anlineoplásico alquilante	Ciclofosfamida	Sustrato
3A4	Inmunosupresor	Ciclosporina A	Sustrato
3A4	Antibiótico antituberculoso	Dapsona	Sustrato
3A4	Antitusivo	Dextrometorfan	Sustrato
3A4	Ansiolítico benzodiazepina	Diazepam	Sustrato
3A4	Glucocorticoide	Dexametasona	Sustrato
3A4	Antiarrítmico	Digitoxina	Sustrato
3A4	Inhibidor canales de calcio	Diltiazem	Sustrato
3A4	Antineoplásico	Docetaxel	Sustrato
3A4	Anticonceptivo	17-beta estradiol	Sustrato
3A4	Antibiótico macrólido	Eritromicina	Sustrato
3A4	Anticonceptivo	17-beta etinilestradiol	Sustrato
3A4	Antineoplásico	Etoposido	Sustrato
3A4	Inhibidor canales de calcio	Felodipino	Sustrato
3A4		Finasteride	Sustrato
3A4	Antineoplásico hormonal	Flutamida	Sustrato
3A4	Antiemético inhibidor 5HT	Granisetron	Sustrato
3A4	Antipsicótico antagonista D2	Haloperidol	Sustrato
3A4	Antineoplásico alquilante	Ifosfamida	Sustrato
3A4	Glucocorticoide	Hidrocortisona	Sustrato
3A4	Antidepresivo tricíclico	Imipramina	Sustrato
3A4	Antiviral inhibidor proteasa	Indinavir	Sustrato
3A4	Antineoplásico	Irinotecan	Sustrato
3A4	Antisecretor inhibidor bomba de protones	Lanzoprazole	Sustrato
3A4	Anestésico tópico amida	Lidocaína	Sustrato
3A4	Antihistaminico selectivo H2	Loratadina	Sustrato
3A4	Antihipertensivo bloqueador ECA	Losartan	Sustrato
3A4	Hipolipemiente estatina	Lovastatina	Sustrato
3A4	Analgésico inhibidor COX2	Meloxicam	Sustrato
3A4	Ansiolítico benzodiazepina	Midazolam	Sustrato
3A4	Inhibidor canales de calcio	Nicardipina	Sustrato
3A4	Inhibidor canales de calcio	Nifedipina	Sustrato

Citocromo	Categoría	Medicamento	Tipo
3A4	Inhibidor canales de calcio	Niludipina	Sustrato
3A4	Inhibidor canales de calcio	Nimodipina	Sustrato
3A4	Inhibidor canales de calcio	Nisoldipina	Sustrato
3A4	Inhibidor canales de calcio	nitrendipina	Sustrato
3A4	Antisecretor inhibidor bomba de protones	Omeprazol	Sustrato
3A4	Antineoplásico	Paclitaxel	Sustrato
3A4	Glucocorticoide	Prednisona	Sustrato
3A4	Antiarrítmico	Propafenona	Sustrato
3A4	Antiarrítmico	Quinidina	Sustrato
3A4	Antiviral inhibidor proteasa	Ritonavir	Sustrato
3A4	Antiviral inhibidor proteasa	Sequinavir	Sustrato
3A4	Antibiótico sulfa	Sulfametoxazol	Sustrato
3A4	Inmunosupresor	Tacrolimus	Sustrato
3A4	Antiestrógeno	Tamoxifen	Sustrato
3A4	Antihistamínico inhibidor H2	Terfenadina	Sustrato
3A4	Xantina	Teofilina	Sustrato
3A4	Ansiolítico benzodiacepina	Triazolam	Sustrato
3A4	Antineoplásico antibiótico	Troleandomicina	Sustrato
3A4	Inhibidor canales de calcio	Verapamil	Sustrato
3A4	Anticoagulante	Warfarina	Sustrato
3A4	Antibiótico macrólido	Eritromicina	Inhibidor
3A4	Antineoplásico antibiótico	Troleandomicina	Inhibidor
3A4	Antimicótico N-imidazol	Ketoconazol	Inhibidor
3A4	Antimicótico N-imidazol	Miconazol	Inhibidor
3A4	Antimicótico N-imidazol	Clotrimazol	Inhibidor
3A4	Anticonceptivo estrógeno	Gestodene	Inhibidor
3A4	Antisecretor inhibidor H2	Cimetidina	Inhibidor
3A4	Antibiótico quinilona	Ciprofloxacina	Inhibidor
3A4	Antibiótico quinilona	Norfloxacina	Inhibidor
3A4	Antiarrítmico	Amiodarona	Inhibidor
3A4	Antiviral inhibidor proteasa	Delaviridine	Inhibidor
3A4	Antiviral inhibidor proteasa	Indinavir	Inhibidor
3A4	Antiviral inhibidor proteasa	Nelfinavir	Inhibidor
3A4	Antiviral inhibidor proteasa	Ritonavir	Inhibidor
3A4	Antiviral inhibidor proteasa	Saquinavir	Inhibidor
3A4	Inhibidor canales de calcio	Diltiazem	Inhibidor
3A4	Antidepresivo inhibidor 5HT2	Nefazodone	Inhibidor
3A4	Inhibidor cGMP-específico fosfodiesterasa tipo 5	Sildenafil (Viagra)	Inhibidor

Citocromo	Categoría	Medicamento	Tipo
3A4	Antidepresivo inhibidor recaptura serotonina	Fluvoxamina	Inhibidor
3A4	Analgésico opioide	Dextropropoxifeno	Inhibidor
3A4	Antihistamínico Receptores H1	Astemizole	Inhibidor
3A4	Antihistamínico Receptores H1	Terfenadina	Inhibidor
3A4	Antihistamínico Receptores H1	Clemastina	Inhibidor
3A4	Broncodilatador antileucotrieno	Zafirlukast	Inhibidor
3A4	Hipoglucemiante	Glibenclamida	Inhibidor
3A4	Antiepiléptico	Carbamacepina	Inductor
3A4	Glucocorticoide	Dexametasona	Inductor
3A4	Anticonvulsivo	Fenitoína	Inductor
3A4	Antibiótico	Rifampicina	Inductor
3A4	Barbitúrico	Fenobarbital	Inductor
3A4	Antisecretor inhibidor bomba de protones	Omeprazol	Inductor
3A4	Glucocorticoide	Hidrocortisona	Inductor
3A4	Glucocorticoide	Prednisona	Inductor
3A4	Antiviral inhibidor proteasa	Nevirapine	Inductor
3A4	Antiviral inhibidor proteasa	Efavirenz	Inductor
3A4	Anticonvulsivo barbitúrico	Primidona	Inductor
3A4	Uricosúrico	Sulfopirazona	Inductor
3A4	Antihistamínico receptores H1	Azadina	Inductor
3A4	Antihistamínico receptores H1	Loratadina	Inductor
3A4	Antisecretor inhibidor bomba de protones	Lanzoprazol	Inductor
3A4	Antisecretor inhibidor bomba de protones	Pantoprazol	Inductor
3A4	Hipolipemiente derivado ácido fibrico	Clofibrato	Inductor
3A4	Vitamina D3	Calcitriol	Inductor
3A4	Esteroides progestágeno	medroxiprogesterona	Inductor
3A4	Antineoplásico antimitótico	Docetaxel	Inductor
3A4	Inhibidor canales de calcio	Nicardipina	Inductor
3A4	Inhibidor canales de calcio	Nifedipina	Inductor
3A4	Inhibidor canales de calcio	isradipina	Inductor
3A4	Derivados de Ergot	Ergotamina	Inductor
3A4	Derivados de Ergot	Dihidroergotamina	Inductor