



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA

**POLIMORFISMOS DE UN SOLO NUCLEÓTIDO DE
IL-6 EN CÁNCER GÁSTRICO.**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

PRESENTA

ESTEFFY ROSALES HORTIALES

DIRECTORA DE TESIS

DRA. MARTHA ESTHELA PÉREZ RODRÍGUEZ

ASESOR INTERNO

MTRA. YOLANDA FLORES CABRERA

AGOSTO 2015

México, D. F.



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

ESTE TRABAJO FUE REALIZADO EN EL
LABORATORIO DE HLA, EN LA UNIDAD DE
INVESTIGACIÓN MÉDICA EN INMUNOLOGÍA,
HOSPITAL DE PEDIATRÍA, CENTRO MÉDICO
NACIONAL SIGLO XXI, IMSS



AGRADECIMIENTOS

Gracias a la Universidad Nacional Autónoma de México que me abrió sus puertas, para hacer posible mi formación académica, una meta en mi vida que me permitirá servir fielmente a la sociedad, me siento orgullosa de pertenecer a esta máxima casa de estudios.

A la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, mi hermoso y amado segundo hogar, por haberme acogido en sus aulas, en sus laboratorios, donde gracias a todos y cada uno de mis maestros obtuve los conocimientos y las armas necesarias para ser la mejor profesional, donde también desarrollé mis habilidades, mi criterio y ética profesional, agradezco grandemente ser parte de ti.

A la Unidad de Investigación Médica en Inmunología, Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS, por haberme permitido hacer uso de sus instalaciones para elaborar mi trabajo de tesis.

A la Dra. Martha Esthela Pérez Rodríguez, a quien estimo y respeto sinceramente, por haberme aceptado como alumna e integrarme en su equipo de laboratorio, por ser mi directora de tesis y moldear día con día mi trabajo para mejorarlo y hacerme crecer como profesional, por apoyarme y orientar mis debilidades, además por impulsarme a siempre dar lo mejor de mí, a superarme constantemente, y a enfrentar retos y decisiones importantes, porque además de todo eso, la considero una excelente persona, capaz y exitosa, gracias por todo!

A la Mtra. Yolanda Flores Cabrera, por haber aceptado ser mi asesora de tesis, por su tiempo dedicado y sus acertados comentarios para corregir mis errores y mejorar con ello mi trabajo final, por haber sido un apoyo y una guía en mi proceso de titulación, por su paciencia y afecto, gracias maestra, con respeto y estima.

Gracias a mis sinodales Dr. Marroquín, QFB. Alicia y QFB Claudia, por sus acertados comentarios para mejorar mi trabajo, por su tiempo y su apoyo en todos los ámbitos, gracias por ser parte de esta etapa tan bonita en mi formación.

A mis amigos, Wendy, Daniel, Paola y Julián, por motivarme y haber hecho de mi estancia en el laboratorio un ambiente agradable. Wendy, gracias especialmente a ti por ayudarme siempre con mis dudas, por enseñarme a trabajar, por ser una maestra para mí, por tu apoyo en el ámbito emocional y sobre todo por tu valiosa amistad. ¡Los quiero!

DEDICATORIAS

A mis padres, a quienes amo con todo mi corazón. ¡Mamita Irma! eres la mejor, te debo tanto, gracias por escucharme, por nunca dejarme, también por tus alegrías para motivarme en los momentos difíciles, eres un pilar y una bendición en mi vida, sin tu apoyo nada sería igual, siempre estuviste conmigo para incentivarme y orientarme, gracias por confiar en mí y por darme todo lo que necesitaba. Gracias por todo, no sabes cuánto te quiero y agradezco. ¡Papito Migue! sabes lo mucho que significa tu presencia en mi vida, siempre me apoyaste, gracias por tus desvelos y preocupaciones, por estar pendiente y también con confiar en mí. Gracias a ambos por quererme tanto, por haberme educado, por brindarme siempre buenos ejemplos de vida e impulsarme a ser mejor persona.

A mi hermana Arisbeth, quien es parte fundamental en mi vida, por tu cariño y por hacerme reír siempre con las cosas graciosas que dices, porque siempre me has enseñado con el ejemplo a ser una persona honesta, fiel a sus ideales, y a confiar en mi misma. Te quiero mucho hermana.

A todos los demás integrantes de mi familia, tíos, primos y abuelos, y cuñado porque con su cariño y motivaciones hicieron más agradable mi trayectoria académica. Y de manera especial una dedicatoria a mis segundos papás, tía Mari y tío Mundo, quienes siempre con sus bondadosas y sabias palabras me apoyaron y acompañaron en esta meta, los quiero.

A mis amigos Irene, Charly, César y Dani, por ser mis compañeros de universidad, por compartir esta bella etapa de su vida conmigo, por estar juntos en momentos de estrés, de tarea, de desvelos, pero también por regalarme sonrisas y grandes alegrías, por motivarme y siempre darme ánimo para continuar. Amiga Irene, en ti encontré una verdadera amistad, gracias por nunca dejarme cuando más necesitaba una palabra de aliento, por quererme y ser mi confidente. Los quiero mucho niños.

A David, con quien viví grandes y maravillosos momentos en la Facultad, gracias por tu apoyo, por tu paciencia, por tu cariño, porque para mí fuiste una guía y una motivación en este camino, por ser mi razón de llegar día tras día con una sonrisa a la escuela, por ser mi equipo de trabajo, pero más que eso por ser mi compañero de vida en esta hermosa etapa. Gracias por regalarme tu tiempo y por hacerme tan feliz. Te quiero demasiado.

Finalmente a Cati, mi amado gato, por ser parte de mi motivación y alegría.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
2. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Cáncer gástrico	3
2.2. Factores de riesgo	5
2.2.1. Ambientales	5
2.2.2. Inherentes al paciente	6
2.2.2.1. Edad y sexo	6
2.2.2.2. Origen étnico	6
2.2.2.3. Genéticos	6
2.3. <i>Helicobacter pylori</i>	9
2.3.1. Epidemiología y transmisión	9
2.3.2. Microbiología	10
2.3.3. Factores de virulencia	11
2.4. Inmunidad a <i>H. pylori</i>	14
2.5. Gen IL-6	18
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	22
4. HIPÓTESIS	23
5. OBJETIVOS	24
5.1. General	24
5.2. Particulares	24
6. MATERIAL Y MÉTODOS	25
6.1. Tipo de estudio	25
6.2. Universo de estudio	25

6.3. Población de estudio	25
6.4. Criterios de inclusión	25
6.5. Criterios de exclusión	26
6.6. Criterios de eliminación	26
6.7. Material biológico.....	26
6.8. Variables	26
6.9. Método	26
6.10. Análisis estadístico	28
6.11. Diagrama de flujo	29
7. RESULTADOS.....	30
8. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	43
9. CONCLUSIÓN	47
10.PERSPECTIVAS.....	48
11.REFERENCIAS.....	49

1. INTRODUCCIÓN

El cáncer gástrico (CG) es la quinta neoplasia más frecuente a nivel mundial, por lo que es considerado un problema de salud. En México, este padecimiento se encuentra dentro de las tres primeras causas de muerte por cáncer, siendo más frecuente en hombres que en mujeres.

El cáncer es una enfermedad multifactorial y su aparición generalmente depende de la interacción de los factores genéticos del individuo con los de su medio ambiente. Entre los factores ambientales de mayor importancia se encuentra la dieta y la infección por *Helicobacter pylori*, con aproximadamente 900,000 casos nuevos registrados cada año a nivel nacional. No obstante que este bacilo coloniza el estómago del 50 al 80% de la población adulta mexicana, sólo en el 1 al 3% de los casos la infección progresa a cáncer gástrico. Por otra parte, factores genéticos tales como polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs, *Single Nucleotide Polymorphism*) en genes involucrados en la respuesta inmune a dicha bacteria, podrían explicar por qué solamente ciertos pacientes infectados desarrollan neoplasia. En estos términos, existen estudios de SNPs presentes en citocinas pro-inflamatorias, como es el caso de IL-6. Esta interleucina ha sido documentada tanto en trabajos clínicos como experimentales por la importancia que tiene en la inmunidad a *H. pylori*, además porque su sobreexpresión puede dar lugar a una respuesta inflamatoria crónica, lo que posiblemente influye en la progresión y metástasis del tumor. Sin embargo, la participación de los SNPs de IL-6 ha sido controversial, en cuanto a ser el mecanismo responsable por el cual esta interleucina promueve el inicio de CG.

El presente estudio tiene como propósito analizar si los alelos de los SNPs -572 C/G, -174 C/G y 1807 C/G presentes en el gen de IL-6 participan como factores de riesgo o de protección en el desarrollo de CG, para ello se obtuvieron muestras de DNA genómico de tres grupos de pacientes: con gastritis no atrófica, metaplasia intestinal y CG, las cuales fueron tipificadas mediante la técnica de PCR tiempo real en un equipo Applied Biosystems StepOne Plus.

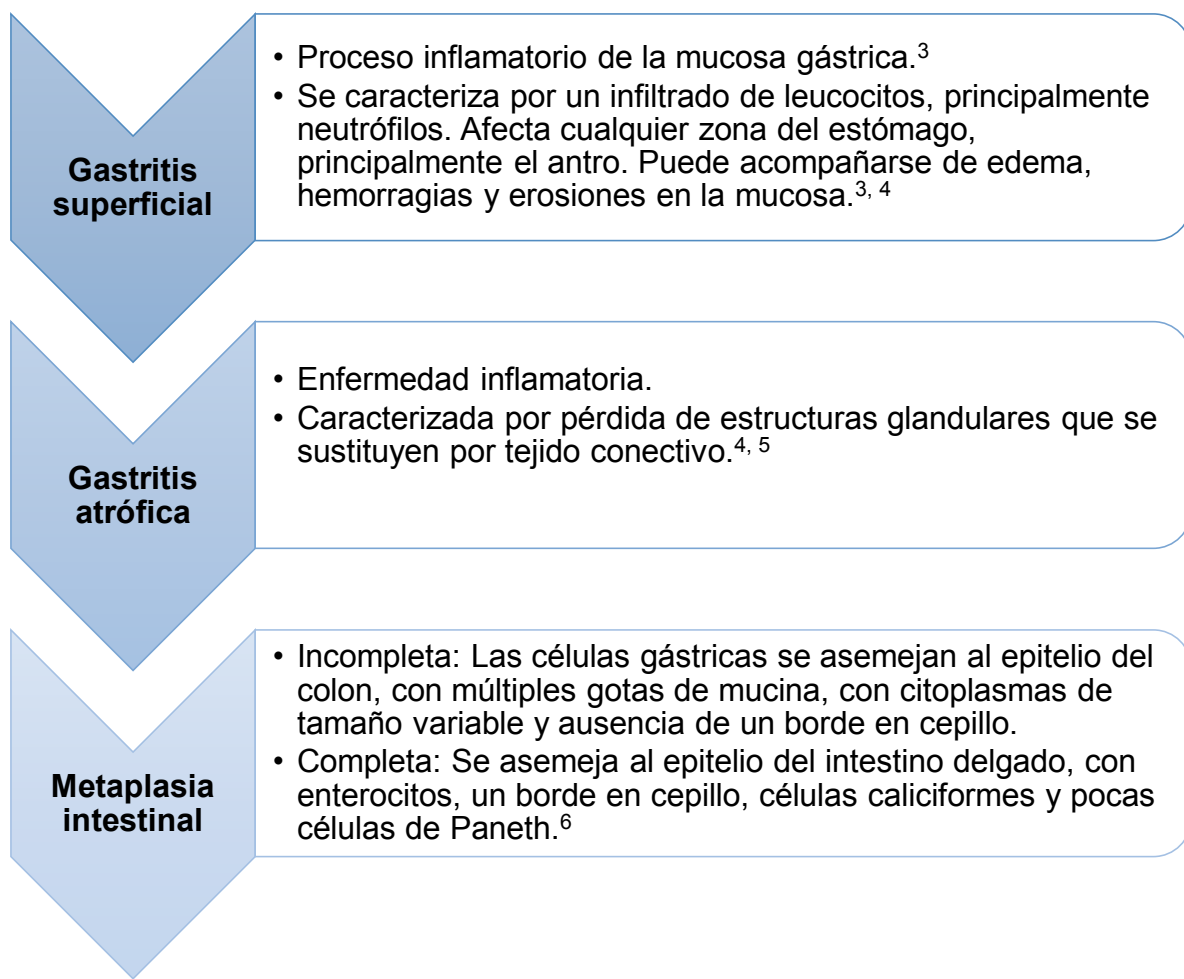
Realizar investigación sobre CG en el campo de la genética tiene gran importancia y aportación clínica, pues con ello se podrían determinar biomarcadores útiles para identificar individuos en riesgo, así como para diagnóstico temprano o pronóstico de esta enfermedad.

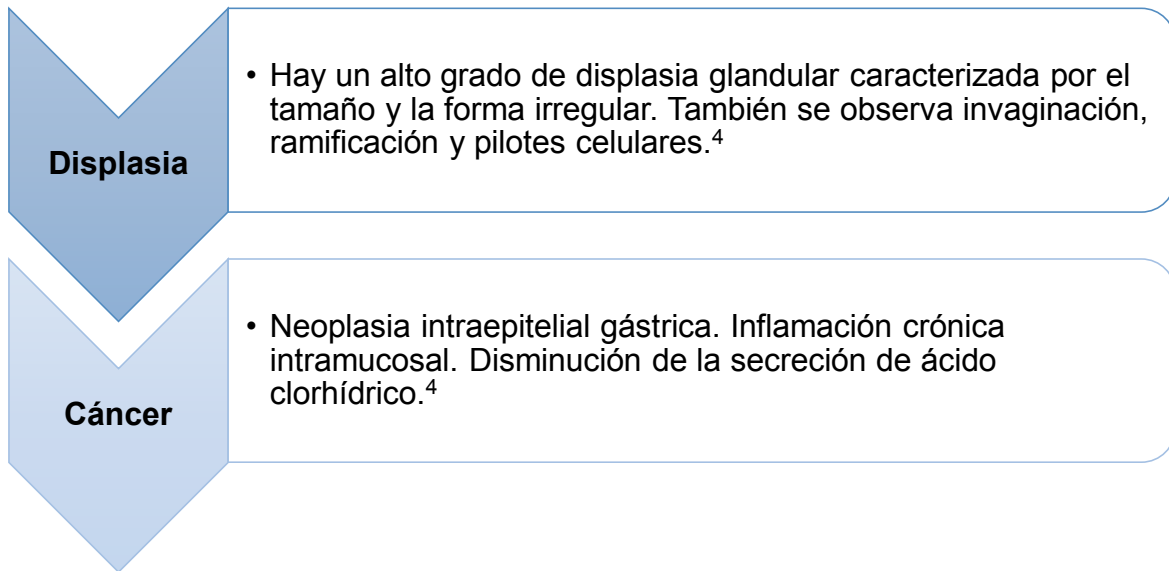
2. MARCO TEÓRICO

2.1 Cáncer gástrico

El cáncer es un padecimiento de etiología multifactorial, en el que se encuentran involucrados diversos factores ambientales e inherentes al paciente, dando lugar a un proceso de crecimiento y diseminación incontrolados de células, que puede ocurrir prácticamente en cualquier parte del cuerpo.¹

El CG puede ser cardinal (cercano al esófago), antral (cercano al píloro duodenal), intestinal o difuso; en el de tipo intestinal, la lesión casi siempre está localizada en un solo foco y cursa a través de la siguiente serie de etapas:²





Por lo regular, el CG difuso se distribuye en varios puntos del estómago y no se le ha atribuido algún tipo de lesión atrófica inicial que favorezca su desarrollo. La infección por *H. pylori* se vincula principalmente con la aparición de CG intestinal, y en menor medida con los de tipo difuso, distal y cardinal.²

La agencia internacional para la investigación en cáncer de la OMS en 2012, reporta de manera general que el CG ocupa el quinto lugar en incidencia y el tercero en mortalidad a nivel mundial. Por otra parte, en México se ha colocado en la cuarta posición de incidencia y tercera en mortalidad, con 4,104 casos (6.3%) y 3,368 casos (8.7%) respectivamente, en hombres; mientras que en mujeres se ha encontrado en el cuarto lugar tanto de incidencia como de mortalidad, con 3,576 casos (4.3%) y 2,913 casos (7.3%) respectivamente.⁷

2.2 Factores de riesgo

2.2.1 Ambientales

El CG es el resultado final de la interacción de diversos factores genéticos y ambientales de un individuo; entre los factores ambientales ha resultado claro que la dieta y la infección por *H. pylori* influyen de manera crucial para el establecimiento del cáncer.^{8, 9} El daño causado por esa bacteria parece ser la causa principal de CG, ya que puede provocar inflamación crónica, acumulación de especies reactivas de oxígeno y daño oxidativo al DNA en la mucosa gástrica, lo que puede promover la progresión del epitelio gástrico normal → gastritis atrófica → metaplasia intestinal → displasia → cáncer.⁸ En cuanto a la dieta, el riesgo aumenta con una ingesta excesiva de almidón, grasa, carnes rojas, y especialmente alimentos conservados ricos en sal que pueden inducir un daño directo en la mucosa gástrica.^{8, 10} También los chiles, los vegetales preparados en vinagre y la carne ahumada son causas importantes de lesiones en el estómago.^{11, 12} En contraste, una alimentación rica en fibra dietética, frutas y vegetales frescos, especialmente aquellos que contienen nutrientes como el ácido ascórbico, carotenoides y β -carotenos pueden disminuir el riesgo, ya que tienen un efecto protector en la mucosa gástrica.¹³⁻¹⁵

Otros factores de riesgo relacionados con el estilo de vida incluyen el consumo de alcohol y cigarro.⁸ El alcohol es un irritante gástrico, además se ha reportado que el hábito de fumar aumenta el riesgo de CG, particularmente para los cánceres de la sección superior del estómago, cercana al esófago. El tabaco puede inducir el desarrollo de lesiones precursoras gástricas e incrementar la oportunidad de infección por *H. pylori*.¹⁶

2.2.2 Inherentes al paciente

2.2.2.1 Edad y sexo

El CG es más frecuente en los hombres que en las mujeres. En estos términos, los estrógenos se han considerado factores protectores para el CG, lo que justifica la mayor incidencia en los varones en comparación con las mujeres (3:1).¹⁷

Así mismo, la frecuencia en personas de más de 50 años de edad aumenta considerablemente. La mayoría de las personas con CG se encuentran entre los 60 y 89 años de edad. Se postula que la aparición de gastritis crónica atrófica, metaplasia intestinal y displasia es un largo proceso de años o décadas.^{12, 18}

2.2.2.2 Origen étnico

Este tipo de cáncer es más común entre las personas de origen hispano, las personas de raza negra y los asiáticos. Las tasas de incidencia varían de acuerdo a la región o país analizado, a escala mundial, el CG es más común en Japón, China, Europa oriental y Latinoamérica. Esta enfermedad es menos común en África occidental, Asia central y Norteamérica.^{12, 19, 20}

2.2.2.3 Genéticos

Los aspectos genéticos del individuo tienen una participación importante en esta patología. Existen reportes de que ciertos SNPs en genes involucrados en la respuesta inmune, pueden influir en las diferentes manifestaciones clínicas de la infección por *H. pylori*, y la subsecuente progresión a cáncer. Por ejemplo, SNPs de algunas citocinas como IL-1B, IL-6, TNF- α , IL-8 e IFN- γ , así como IL-22 e IL-17 pueden inducir una respuesta inflamatoria crónica.²¹⁻³² Los polimorfismos en IL-1B se han relacionado con niveles elevados de ésta, lo que resulta crucial en CG, pues

IL-1B es el inhibidor más poderoso de la acidez gástrica que se conoce.^{22, 33} Los polimorfismos en TNF- α no afectan los niveles de ésta en la mucosa gástrica, pero sí afectan la inflamación gástrica en algunas personas.³⁴ IL-8 se encuentra sobreexpresada en la mucosa gástrica expuesta a *H. pylori*, y sus polimorfismos se han asociado con el pronóstico de los pacientes;³⁵ el genotipo -251 A/A de IL-8 ha sido un indicador de mal pronóstico en CG porque está relacionado con angiogénesis.³⁶ IFN- γ afecta la apoptosis de las células cancerosas gástricas.²¹

No obstante, este trabajo centró su interés en IL-6. Se han reportado niveles elevados de IL-6 en suero de pacientes con CG.³⁷ Existen varios estudios que evalúan la participación de algunos SNPs en la región promotor del gen IL-6 con el riesgo a desarrollar CG, aunque sus resultados son un tanto controversiales.³⁷⁻³⁹

Por ejemplo, los portadores de los genotipos G/G y G/C del SNP -174 producen cantidades elevadas de esta citocina en suero, en comparación con los individuos que poseen el genotipo C/C.^{37, 38} Lo mismo ocurre con el genotipo G/G del SNP -572.³⁷ Además, se ha documentado que los genotipos G/G y G/C del SNP -174 son asociados con el incremento de riesgo para los carcinomas gástricos de tipo difuso (OR=6.809, P=0.034) en Finlandeses.³⁸ Hay trabajos que asocian el genotipo G/G del SNP -174 con riesgo de presentar úlcera gástrica.^{37, 40} Por otra parte, los niveles de IL-6 en la mucosa del estómago incrementan en la gastritis asociada a *H. pylori*, pero disminuyen dramáticamente después de la erradicación de la infección.^{37, 41}

En un análisis combinado del SNP -174 C/G del gen IL-6, que incluía pacientes caucásicos europeos (Finlandia), hubo mayor riesgo con CG (OR=2.02, IC 95%=1.31-3.10) para el genotipo G/G, comparado con el genotipo C/C (**Cuadro 1**).

No obstante, el riesgo de úlcera gástrica fue significativamente mucho mayor con el genotipo G/G (OR=59.86, IC 95% 8.27-433.4).³⁷

Cuadro 1. Asociación entre SNPs de IL-6 con riesgo a desarrollar cáncer gástrico.

SNP	Genotipo	CG (n)	OR	IC 95%	Valor p	Úlcera (n)	OR	IC 95%	Valor p
-174	C/C	34	-			1	-		
	C/G	82	0.98	0.63-1.54	0.93	26	10.57	1.42-78.73	0.02
	G/G	142	2.02	1.31-3.10	<0.01	124	59.86	8.27-433.4	<0.01
-572	C/C	173	-			327	-		
	C/G	143	1.02	0.75-1.40	0.89	214	0.81	0.61-1.07	0.15
	G/G	29	1.48	0.81-2.72	0.20	44	1.19	0.68-2.08	0.54
-597	G/G	75	-						
	G/A	67	0.89	0.58-1.37	0.61				
	A/A	28	0.62	0.37-1.07	0.09				

CG: Cáncer gástrico. OR: Odds ratio (riesgo relativo), IC: Intervalo de confianza, p: Significancia de X^2 (Tomado de Sugimoto, 2010).

Sin embargo, la frecuencia genotípica de los SNPs difiere entre poblaciones, por ejemplo, el genotipo C/C del SNP -174 es menos frecuente en Asia oriental, y en América latina (0%-9.8%) en comparación con América del norte y las poblaciones europeas (13.4%-28.3%). En Asia oriental, en particular, la frecuencia del alelo C es <1% no sólo en pacientes con CG, también en los que padecen gastritis, por lo que dicho polimorfismo no es útil para buscar asociaciones en Asiáticos. No obstante, el hecho de que existan diferencias en las frecuencias de ciertos SNPs podría influir en que la prevalencia de CG sea mayor en países asiáticos orientales y latinoamericanos que en caucásicos.^{37, 42, 43} Por otra parte, en algunos estudios los SNP -572 y -597 de IL-6 no han mostrado una relación significativa con

enfermedades gástricas. Aunque bien, el genotipo G/G del SNP -572 representó un factor de riesgo para CG (OR=21.13, IC 95%=5.56-131.98) y para desarrollo de úlcera péptica (OR=2.98, IC 95%=1.05-8.47) en poblaciones occidentales (**Cuadro 2**).³⁷

Cuadro 2. Comparación de la incidencia en cáncer gástrico no cardial y úlcera péptica, en poblaciones occidentales y asiáticas.

Enfermedad	SNP	Genotipo	Occidente			Asiáticos		
			OR	IC 95%	p	OR	IC 95%	p
CG	-572	C/G	9.87	2.56-37.98	<0.01	0.85	0.61-1.19	0.34
		G/G	21.13	5.56-131.98	<0.01	0.99	0.48-2.03	0.97
UP	-572	C/G	1.31	0.07-2.56	0.42	0.77	0.55-1.05	0.07
		G/G	2.98	1.05-8.47	0.04	0.67	0.33-1.34	2.66

CG: Cáncer gástrico, UP: Úlcera péptica. OR: Odds ratio (riesgo relativo), IC: Intervalo de confianza, p: Significancia de χ^2 . (Tomado de Sugimoto, 2010).

Finalmente, IL-6 desempeña una participación positiva como un factor en la metástasis del cáncer a ganglios linfáticos.⁴⁴

2.3 *Helicobacter pylori*

2.3.1 Epidemiología y transmisión

La infección por *H. pylori* afecta a más de la mitad de la población mundial, ésta favorece el establecimiento de un cuadro inflamatorio crónico, y posiblemente es causante del daño al epitelio gástrico que progresa a cáncer. Por lo general, la bacteria es adquirida durante la infancia, perdurando hasta la edad adulta. La

mayoría de los individuos infectados permanecen asintomáticos y sólo 10 a 20% evoluciona a gastritis atrófica; de los cuales menos del 3% desarrolla CG.²

En la población infantil de países en desarrollo y con condiciones no óptimas de sanidad, se reportan prevalencias a la infección de *H. pylori* hasta de 70 a 80%; en cambio, en países desarrollados y con condiciones sanitarias óptimas, la prevalencia es sólo de 0.5 a 1% para menores de 10 años.⁴⁵

En cuanto a México, se ha observado mayor riesgo de infección en el estado de Chiapas.⁴⁶

La infección por esta bacteria está asociada con condiciones pobres de higiene, aunque el mecanismo de transmisión de *H. pylori* aún no ha sido completamente dilucidado, ciertas evidencias sugieren que la transmisión puede ser vía oral-oral, o bien fecal-oral.^{24, 47, 48}

La ingestión de agua contaminada también se considera un probable mecanismo de adquisición, independientemente del estatus socioeconómico del individuo; por otra parte en un análisis realizado con niños brasileños, la presencia de anticuerpos IgG contra *H. pylori* se asoció con las siguientes variables: edad superior a ocho años de edad (OR= 1.72, IC 95%=1.23-2.40), asistencia a guardería (OR=1.49, IC 95%=1.4-2.12), ubicación de la casa en una calle sin pavimentar (OR=2.03, IC 95%=1.44-2.87) y la ausencia de un inodoro (OR=1.32, IC 95%=1.0-1.74).^{47, 49}

2.3.2 Microbiología

H. pylori es una bacteria gramnegativa, miembro de una familia de bacilos espirales, mide de 0.5 a 1.0 μm de ancho y 2.5 a 4.0 μm de largo, tiene una pared celular lisa, cubierta por un glucocalix de 40 nm. Es microaerófilico, no esporulado y posee de dos a seis flagelos unipolares, cada uno de 12 a 15 nm de largo y 30 nm de ancho que culminan en un bulbo; cada flagelo contiene un filamento central constituido por polímeros de 53 kDa, al que se le denomina flagelina. (Fig. 1).⁵⁰

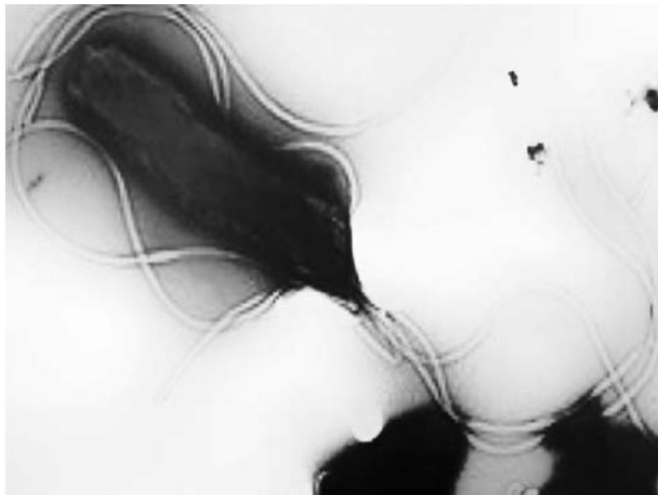


Fig. 1 Microfotografía de *Helicobacter pylori*. (Tomado de Serrano, 2009).

2.3.3 Factores de virulencia

Los principales factores de patogenicidad de la bacteria comprenden a la citotoxina asociada al producto génico A (CagA), toxina vacuolizante (VacA) y la γ -glutamyltranspeptidasa (GGT), además de los patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs) que incluyen el lipopolisacárido (LPS) y el flagelo.²⁴

Cag A es el factor de virulencia más importante y mejor estudiado, las cepas CagA⁺ se asocian con mayor riesgo a procesos inflamatorios persistentes, pues son más potentes al causar daño a la mucosa gástrica, en comparación con las cepas CagA⁻.⁵¹ En varios estudios se ha mostrado la importancia de CagA en la inflamación inducida por *H. pylori*, y se sugiere que puede tener una función en la activación del factor nuclear kappa-B (NF-κB), así como en la producción de IL-8 en células epiteliales gástricas.^{24, 51} Es importante notar que la presencia de Cag A usualmente coincide con la presencia de otros factores de virulencia, incluyendo Vac A, Bab A y Oip A.⁵¹

Cag A es responsable de innumerables alteraciones en vías de señalización que influyen profundamente en las células del hospedero. Este factor se inserta directamente en el citoplasma de la célula del huésped, donde se fosforila y se une al dominio SH2 de una fosfatasa involucrada en la transducción de señales (SHP-2).⁵² Cag A también es capaz de conducir la transición de un fenotipo celular epitelial a mesenquimal, lo cual se relaciona con carcinogénesis.^{51, 53, 54}

Otro elemento crucial que tiene relación con la persistencia de la infección es la secreción de la proteína VacA, ésta fue llamada así por su habilidad para inducir numerosas vacuolas en las células del hospedero.⁵¹ Vac A forma estructuras similares a poros. Para formar dichas vacuolas, Vac A se une a receptores de la proteína tirosina fosfatasa (RPTPα y RPTPβ), así como a otras proteínas transmembranales glicosiladas en la superficie de la célula del huésped; después Vac A es endocitada y forma canales tipo anión-selectivos en la membrana vacuolar. Los canales permiten la acumulación de iones cloruro y de bases débiles, lo que resulta en un hinchamiento osmótico.^{51, 54, 55} Además, Vac A se inserta en la

membrana mitocondrial ocasionándole disfunción, y muerte apoptótica posterior a la célula. La vacuolización no es el único efecto de la intoxicación por Vac A, también se ve interrumpida la función de barrera de las células epiteliales gástricas, permitiendo la fuga de nutrientes esenciales como hierro, níquel y aminoácidos, esto probablemente mejora el crecimiento de *H. pylori* (Fig. 2).⁵¹

Así mismo, Vac A es capaz de inducir la producción de citocinas pro-inflamatorias, tales como TNF- α , IL-1 β e IL-6.²⁴

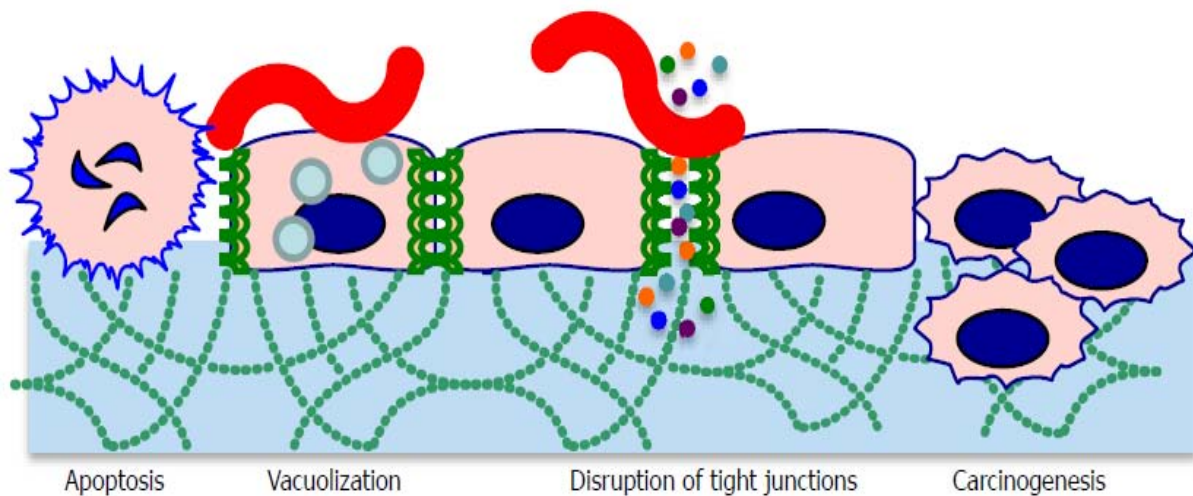


Fig. 2 Efectos de *H. pylori* en las células del huésped. Los factores de virulencia de *H. pylori* pueden conducir a la apoptosis, vacuolización, alteración de la función de barrera de las células (lo que causa pérdidas de nutrientes) y carcinogénesis. (Tomada de Testerman, 2014).

Esta bacteria codifica dos adhesinas, la adhesina de unión a antígenos de grupo sanguíneo (Bab A) y la adhesina de unión a ácido siálico (Sab A). Bab A se une al antígeno de Lewis b (Le^b) y su actividad de unión es más notable en las cepas que

son Cag A⁺. Esto contribuye a la formación de rupturas de la doble cadena de DNA, y puede promover mutaciones genéticas asociadas a cáncer. La adherencia a través de Bab A también mejora la secreción tipo IV, lo que conduce a una respuesta inflamatoria más fuerte.^{51, 56}

Independientemente de la unión de Bab A a antígenos de grupo sanguíneo, *H. pylori* se une al ácido siálico, en particular al antígeno Lewis-sialil x/a (sLe^x y sLe^a) mediante la adhesina Sab A. Curiosamente, sLe^x está ausente en la mucosa gástrica saludable (sin procesos inflamatorios), y por lo tanto, la adhesión mediada por Sab A se convierte en un factor relevante en la persistencia bacteriana después de su colonización y establecimiento satisfactorios en el estómago.^{56, 57}

H. pylori sintetiza grandes cantidades de una enzima hexamérica para la urea, llamada ureasa, integrada en seis monómeros. Su función es amortiguar el pH del estómago mediante la conversión de urea a CO₂ y amonio, pues con ello se neutraliza el medio ácido que rodea a la bacteria y le facilita su colonización y persistencia.^{58, 59}

También, este agente produce cantidades elevadas de catalasa y superóxido dismutasa, fosfolipasa A2 y C, GGT y glucofosfatasa degradadora de moco y leucin-aminopeptidasa.⁴⁹

GGT se ha asociado con el desarrollo de úlcera péptica, incrementa la secreción de IL-8 y la producción de peróxido de hidrógeno en las células epiteliales gástricas.⁵¹

2.4 Inmunidad a *H. pylori*

La inflamación por la infección es causada por múltiples vías donde participan tanto las células epiteliales gástricas, siendo la primera línea de defensa, como las células inmunes circulantes reclutadas al sitio dañado.²⁴

La respuesta inflamatoria se caracteriza por la expresión local de citocinas, quimiocinas y moléculas de adhesión, las cuales regulan el reclutamiento de leucocitos y estimulan a fibroblastos y células endoteliales para dividirse y producir componentes de remodelación de tejido y neovascularización. Esta reacción es modulada en particular por la vía NF- κ B que activa la transcripción de factores de crecimiento, genes antiapoptóticos y otras proteínas.²

En condiciones normales, una reacción inflamatoria se autolimita a través de la disminución de factores pro-inflamatorios y el incremento de anti-inflamatorios. Las células inmunitarias sufren apoptosis y son fagocitadas, además, se revierten los cambios vasculares que facilitaron su conjunción. Se conoce poco acerca del mecanismo de resolución de la inflamación, sólo se sabe que la permanencia de los leucocitos es una de las principales características del proceso de la inflamación crónica.^{2, 60}

La respuesta inflamatoria por esta bacteria inicia con el reconocimiento de ligandos por células del sistema inmune innato, con la utilización de receptores localizados en la superficie celular, en compartimentos intracelulares o secretados a la circulación, los denominados PRR (receptores de reconocimiento patrón). Los más importantes son los receptores tipo toll (TLR) y los de dominio de oligomerización de unión a nucleótidos (NOD).^{2, 61}

Los NOD son receptores citoplasmáticos, y su activación se inicia cuando los peptidoglucanos internalizados o de microorganismos intracelulares son reconocidos, con ello se lleva a cabo la activación de NF- κ B, que a su vez induce la expresión de citocinas pro-inflamatorias. Los TLR son proteínas de membrana tipo I, con un dominio extracelular que reconoce los ligandos, y un dominio intracelular, transductor de señales. Las células epiteliales del estómago expresan TLR2, TLR4, TLR5 y TLR9.^{61, 62}

H. pylori induce infiltración en la mucosa gástrica de leucocitos polimorfonucleares, macrófagos, células dendríticas (CD), linfocitos T y B (Fig. 3). Las integrinas pueden reconocer factores de virulencia provenientes de la bacteria y los TLR, así como los NOD1 pueden interactuar con los PAMPs. La activación de las CD gástricas induce a las células T CD4⁺ a diferenciarse a Th1 mediante la producción de IL-12. Las células Th1 secretan citocinas tales como IL-1, IL-6, TNF- α e IFN- γ . Esta diferenciación es dependiente de IL-18, la cual promueve la producción de IFN- γ por las células T y NK en presencia de IL-12 y se relaciona con la inflamación gástrica. La respuesta inicial Th1 parece erradicar la infección, sin embargo, en algunos individuos las citocinas producidas por Th1 mantienen la inflamación de la mucosa, lo que contribuye al desarrollo de gastritis atrófica, hiperplasia epitelial y metaplasia intestinal.²⁴

H. pylori es una bacteria extracelular, por lo tanto, se esperaría una respuesta inmune tipo Th2, no obstante, ésta se encuentra débilmente asociada con la infección.⁶³ La respuesta Th2 ha sido observada en pacientes con metaplasia y CG intestinal, lo que sugiere que las células Th2 podrían estar involucradas solamente en diferentes resultados de la infección por *H. pylori*.²⁴

En las personas infectadas, una respuesta Th2 induce producción de anticuerpos IgG1, mientras que una respuesta Th1 contribuye a un incremento significativo en los niveles de IgG2. Los títulos de IgG2 por lo regular son más elevados que los de IgG1, particularmente en aquellos pacientes con úlcera gástrica.⁶⁴

Además de las respuestas inmunes Th1/Th2, las células Th17 también contribuyen en la defensa de la mucosa, ya que funcionan como mediadoras de la inflamación con la producción de IL-17 e IL-8, las cuales son capaces de atraer granulocitos al sitio de infección.⁶⁵ Un aumento de IL-17 depende de la secreción de IL-6 e IL-23 por los macrófagos estimulados con la bacteria. Las células Th17 persisten en la sangre y mucosa gástrica después de la erradicación de *H. pylori*, y pueden estar involucradas con la permanencia de la inflamación gástrica; se ha visto que esta persistencia es una consecuencia de los niveles de IL-1 β , que siguen siendo elevados en la mucosa gástrica para entonces.⁶⁶

Por otra parte, las células Treg son potentes supresores de las células T, por lo tanto se han relacionado con la limitación de la respuesta inflamatoria, ya que producen citocinas anti-inflamatorias tales como IL-10 y TGF-B.⁶⁷

Finalmente, se sabe que la infección de *H. pylori* puede suprimir la respuesta inmune del hospedero, sin embargo, el mecanismo de ello está escasamente comprendido.²⁴

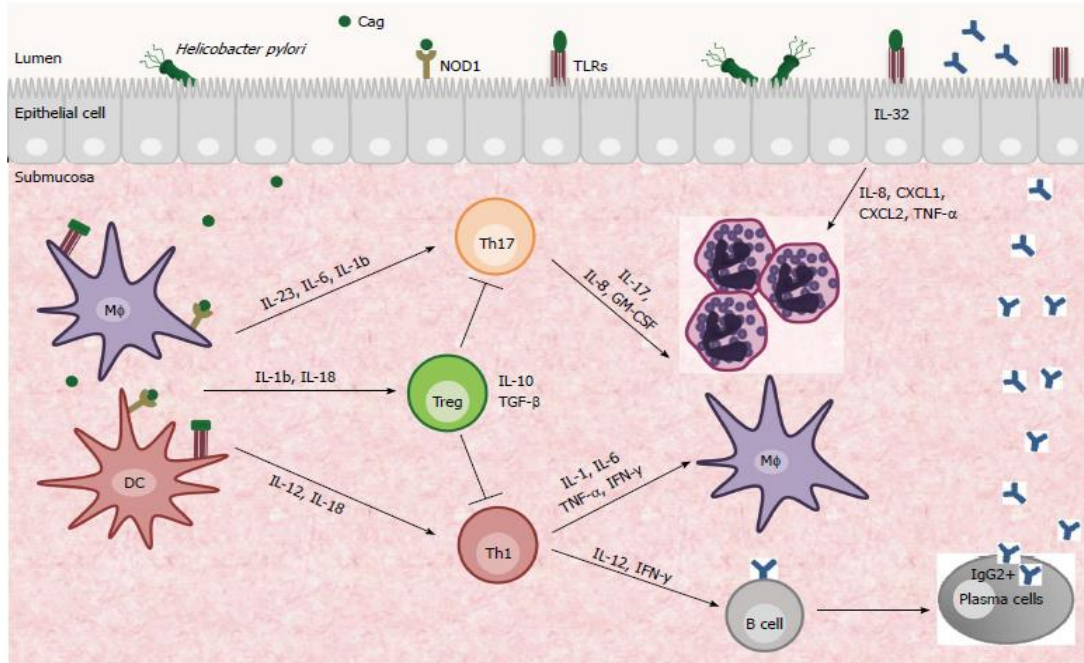


Fig. 3 Respuesta inmunológica a la infección por *Helicobacter pylori*. La presencia de *H. pylori*, sus citotoxinas (VacA y CagA), y sus PAMPs (flagelos y lipopolisacáridos) en la mucosa gástrica activa a células presentadoras de antígeno (células dendríticas y macrófagos). Esas células estimulan la respuesta inmune adaptativa por medio de la producción de citocinas, tales como IL-12 e IL-23, las cuáles activan a las células Th1 y Th17, respectivamente. Las citocinas inducen un proceso inflamatorio caracterizado por el reclutamiento de neutrófilos, linfocitos, macrófagos y células dendríticas. (Tomado de Figueiredo CV *et al.* 2014).

2.5 Gen IL-6

El gen IL-6 está localizado en el brazo corto del cromosoma 7 (7p21). Este gen codifica para la citocina IL-6, que participa en procesos inflamatorios, así como en la maduración de las células B.⁶⁸

Las citocinas son polipéptidos producidos en los primeros instantes de la activación celular en respuesta a microorganismos y otros antígenos. Su función es mediar y regular las reacciones inmunitarias e inflamatorias.⁶⁹ La familia de citocinas regula la duración y la amplitud de la respuesta inmune, tanto innata como adaptativa. Las

interleucinas reclutan células a la zona en conflicto e inducen la generación de nuevas células a partir de los precursores hematopoyéticos.⁷⁰ Aunque hay gran número de citocinas distintas, todas comparten ciertas características: a) tienen bajo peso molecular, b) son producidas *de novo* cuando comienza la activación celular, c) tienen una vida media muy limitada y d) sólo son capaces de estimular a aquellas células que posean receptores específicos, generalmente formados por varias cadenas polipeptídicas.^{69, 70}

IL-6 es una citocina pleiotrópica, producida por macrófagos, células Th1, Th2, células endoteliales y fibroblastos.⁷¹ Principalmente se ha reconocido por su actividad pro-inflamatoria, aunque, en realidad también tiene carácter anti-inflamatorio. Por un lado, IL-6 es un activador del sistema inmune, pues tiene una participación vital durante la transición de la inmunidad innata a la adquirida, pero por otra parte, también se ha observado que sus niveles elevados participan en procesos regenerativos, por ejemplo en la restauración del hígado después de una hepatectomía parcial.^{71, 72}

Se ha documentado que IL-6 es indispensable para la transformación celular inducida por oncogenes.^{71, 73} La proteína es producida en los sitios de inflamación aguda y crónica, luego es secretada al suero e induce una respuesta inflamatoria transcripcional a través del receptor de interleucina 6 alfa (IL-6R- α). El funcionamiento de este gen está implicado en una amplia variedad de enfermedades asociadas a inflamación; incluyendo la susceptibilidad a diabetes mellitus, artritis reumatoide juvenil sistémica.^{68, 72}

Así mismo, se ha mostrado que IL-6 es un pirógeno endógeno capaz de inducir fiebre en personas con enfermedades autoinmunes o infecciones.^{71, 74}

El gen está compuesto por 4,856 pb; contiene un promotor, el cual es la secuencia de DNA inmediatamente cercana al sitio de inicio de la transcripción. El promotor es el sitio donde la RNA polimerasa y los factores de transcripción se unen. (Fig. 4). Además posee cinco exones (región codificante) y cuatro intrones (región no codificante).⁷⁵

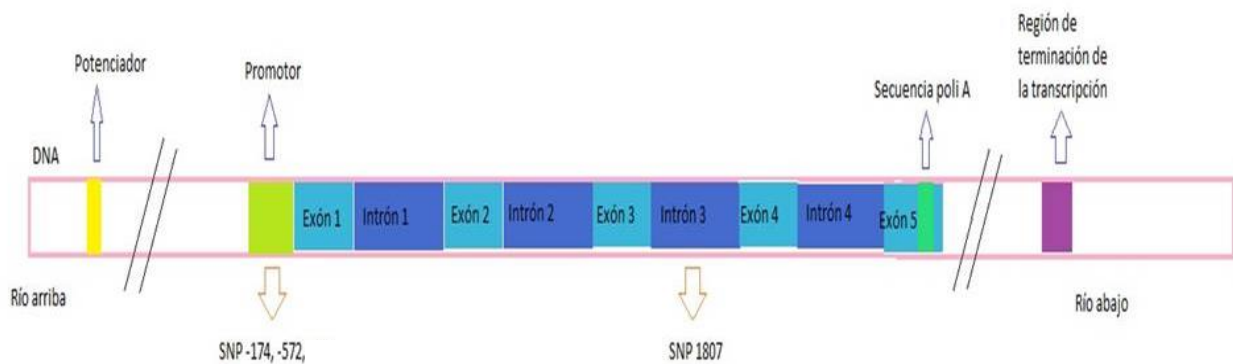


Fig. 4 Gen IL-6. El gen IL-6, con sus 5 exones, 4 intrones y región promotor. Localización de los SNPs de estudio.

La expresión génica es el proceso por el cual la información a partir de un gen es empleada en la síntesis de un producto génico funcional, su control es a menudo llevado a cabo al inicio de la transcripción. Existen proteínas reguladoras que se unen al DNA para bloquear o estimular la transcripción. Actualmente se conocen más mecanismos de regulación génica.⁷⁶ En estos términos, hay muchos SNPs presentes en regiones reguladoras no codificantes, las funciones exactas de éstos

aún no está completamente clara. No obstante, SNPs presentes en la región promotor de ciertos genes pueden influir en la afinidad de unión de factores de transcripción, y con ello regulan o alteran su expresión génica.⁷⁷

Finalmente, aunque más del 99% de las secuencias de DNA humano son las mismas en todas las poblaciones, algunos SNPs pueden tener gran impacto en cómo los seres humanos responden a las enfermedades y agresiones ambientales, tales como bacterias, virus, toxinas y productos químicos; de modo que este puede ser el caso de los SNPs presentes en el gen IL-6.^{77, 78}

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En la población mexicana el cáncer gástrico representa una de las tres primeras causas de muerte por cáncer. Su principal causa es la infección por *Helicobacter pylori*; la cual afecta aproximadamente a la mitad de la población. Del total de los casos infectados, solamente del 1 al 3% de los pacientes llegan a desarrollar cáncer gástrico, sin embargo, no se han dilucidado por completo los factores de riesgo que los motivan a evolucionar a neoplasia. Al respecto, existen reportes donde la sobreexpresión de genes de citocinas pro-inflamatorias provoca inflamación crónica, lo que promueve la aparición de lesiones gástricas. Aunque, no se ha evaluado la asociación de SNPs presentes en la región promotor e intrón del gen IL-6 con carcinogénesis gástrica en población mexicana. Es por ello que realizar un estudio genotípico de los SNPs -572 C/G, -174 C/G y 1807 C/G en diferentes grupos de pacientes, podría esclarecer un posible factor de riesgo del cáncer gástrico y con ello aportar una explicación de por qué únicamente un pequeño porcentaje de casos lo desencadena.

4. HIPÓTESIS

Si la sobreexpresión de la citocina IL-6 colabora con la respuesta inflamatoria crónica que da lugar al proceso de carcinogénesis, entonces los SNPs -572 C/G, -174 C/G y 1807 C/G presentes en la región promotor e intrón del gen IL-6 representarán factores de riesgo para el desarrollo de cáncer gástrico.

5. OBJETIVOS

5.1 General

- Analizar la participación que tienen los alelos de los SNPs -572 C/G, -174 C/G y 1807 C/G del gen IL-6 como factores de riesgo en el proceso de carcinogénesis gástrica.

5.2 Particulares

- Genotipificar los alelos pertenecientes a los SNPs -572 C/G, -174 C/G y 1807 C/G del gen IL-6 en controles, pacientes con gastritis no atrófica, metaplasia intestinal y cáncer gástrico.
- Obtener las frecuencias alélicas, genotípicas y haplotípicas para cada grupo.
- Determinar diferencias en los genotipos y haplotipos de los controles, pacientes con gastritis no atrófica, metaplasia intestinal y cáncer gástrico.

6. MATERIAL Y MÉTODOS

6.1 Tipo de estudio

Casos y controles.

6.2 Universo de estudio

Pacientes adultos con lesiones gástricas que acuden al Hospital de Oncología del Centro Médico Nacional Siglo XXI del IMSS.

6.3 Población de estudio

Pacientes

Se analizaron 561 muestras de DNA, clasificadas en: 296 con gastritis no atrófica, 81 con metaplasia intestinal y 184 con cáncer gástrico.

Asintomáticos

Se analizaron 190 muestras de sujetos clínicamente sanos, sin reportes de enfermedades gástricas y sin antecedentes familiares de cáncer, obtenidas del banco de sangre central del Centro Médico Nacional Siglo XXI, del IMSS.

6.4 Criterios de inclusión

- Pacientes con diagnóstico definido de gastritis no atrófica, metaplasia intestinal y cáncer gástrico.
- Pacientes con autorización para participar en el estudio mediante consentimiento informado por escrito.
- Pacientes adultos, a partir de 18 años en adelante.
- Ser mexicano con ascendencia de dos generaciones mexicanas o más.

- Masculino o femenino.

6.5 Criterios de exclusión

- Estar embarazada.
- Diagnóstico de alguna enfermedad autoinmune: diabetes, espondiloartropatía u otro tipo de cáncer.
- Diagnóstico de enfermedad cardiovascular: cardiopatía coronaria, reumática o congénita.

6.6 Criterios de eliminación.

- Muestra de sangre periférica insuficiente.
- Obtención de DNA degradado.
- Cantidad insuficiente de DNA extraído.
- Resultados incompletos de genotipificación.

6.7 Material biológico

Muestras de sangre periférica para la extracción de DNA genómico por el método de *salting-out*.

6.8 Variables

Dependiente: Gastritis no atrófica, metaplasia intestinal y cáncer gástrico.

Independiente: SNPs -174 C/G, -572 C/G y 1807 C/G del gen IL-6.

6.9 Método

Toma de muestra

Punción venosa con tubos Vacutainer de 6 mL marca BD en el antebrazo del paciente, con EDTA como anticoagulante.

Extracción de DNA genómico

Se obtuvo DNA genómico mediante la técnica de *salting-out*. Cada muestra se trató con una solución de lisis de glóbulos rojos que contiene Sucrosa 0.3 M, Tris-HCl pH 7.5 10 mM, MgCl₂ 5 mM y Triton 100X 1%, luego de lo cual, se centrifugó y se decantó el sobrenadante. Posteriormente se procedió a lisar los leucocitos con un buffer pH 8 (NaCl 0.075 M y Na-EDTA 0.024 M); se adicionó SDS al 20% y NaClO₄ 5M, se agitó algunos minutos y se agregó NaCl 5M para separar el DNA de las proteínas. Se centrifugó y se recolectó el sobrenadante, al cual se le adicionó isopropanol a -20 °C para precipitar el DNA. El pellet obtenido se lavó con una solución de etanol frío al 70%, para finalmente resuspenderlo en agua inyectable.

Cuantificación e integridad del DNA

Se tomó 1 µL de muestra de DNA y se colocó en el pedestal inferior del equipo NanoDrop ND 1000, programado previamente con 1 µL de agua inyectable como blanco. Después de colocar la muestra, la medición espectral se realizó empleando el software asociado al equipo (Start---Programs---Nanodrop---ND-1000 3.3.0).

La integridad del DNA fue revelada mediante electroforesis en gel de agarosa.

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

La amplificación y genotipificación del DNA se realizó mediante la técnica de PCR tiempo real. Para ello la mezcla de reacción se preparó de la siguiente manera:

Componente	Volumen de reacción por pocillo (μL)
Master Mix TaqMan® Universal PCR (2X)	12.50
Sonda SNP de ensayo (20X)	1.25
Templado de DNA genómico (20 ng/ μL) + agua libre de DNAsa	11.25
Volumen total de mezcla de reacción	25.00

La placa preparada se centrifuga y se coloca en el equipo para PCR tiempo real Applied Biosystems StepOne Plus. Se realizan 40 ciclos con tres fases cada uno: desnaturalización (95°C), anillamiento (55°C) y elongación (70°C). Al terminar, empleando el software del equipo, se visualizan los resultados en un gráfico donde se muestran los alelos pertenecientes al SNP de estudio por cada paciente.

6.10 Análisis estadístico

Las frecuencias alélicas y haplotípicas se obtendrán con el programa Haploview. La frecuencia genotípica se realizará por conteo directo. Se analizarán las frecuencias alélicas, genotípicas y haplotípicas de los SNPs en estudio con la prueba de *Chi* cuadrada (X^2). El vigor de asociación entre los SNPs con cáncer gástrico se determinará calculando el OR (*Odds Ratio*) con un IC 95%, mediante el programa EPIDAT 3.1.

6.11 Diagrama de flujo



7. RESULTADOS

Los SNPs -572 C/G, -174 C/G y 1807 C/G del gen IL-6, los dos primeros localizados en promotor y el tercero en intrón 3, fueron tipificados con sondas TaqMan mediante la técnica de PCR tiempo real, para cada SNP se determinaron los alelos C y G en cada grupo de estudio.

Población de estudio

Se incluyeron 561 pacientes en total, incluyendo aquellos con diagnóstico de gastritis no atrófica, metaplasia intestinal y cáncer gástrico; además se trabajó con 190 individuos asintomáticos, dando un total de 751 muestras, de las cuales el 56% correspondió a mujeres y 44% a hombres. En cada grupo se observó que la edad presentaba una distribución libre, por lo que se calculó la mediana y los percentiles 25 y 75 (**Cuadro 3**).

Cuadro 3. Descripción de la población de estudio.

Grupo	n	Mujeres n (%)	Edad (años) Mediana	Percentiles (25 – 75)	Hombres n (%)	Edad (años) Mediana	Percentiles (25 – 75)
Asintomáticos	190	79 (41.6)	36	28 - 46	111 (58.4)	30	24 – 41
Gastritis no atrófica	296	182 (61.5)	47	40 - 57	114 (38.5)	46	38 - 56
Metaplasia intestinal	81	60 (74.0)	58	49 - 67	21 (26.0)	53	50 - 72
Cáncer gástrico	184	100 (54.3)	61	49 - 71	84 (45.7)	64	55 - 73
Total	751	421 (56.0)			330 (44.0)		

Polimorfismos de un solo nucleótido

De las 751 muestras obtenidas, se tipificaron 741 para el SNP *IL-6* -572, 744 para el SNP *IL-6* -174 y 751 para el SNP *IL-6* 1807 (**Cuadro 4**).

Cuadro 4. Número de muestras tipificadas.

SNP <i>IL-6</i>	Asintomáticos n=190	Gastritis no atrófica n=296	Metaplasia intestinal n=81	Cáncer gástrico n=184	Total muestras n=751
-572	190	295	80	176	741
-174	190	296	81	177	744
1807	190	296	81	184	751

Frecuencias alélicas

Se obtuvo el número de pacientes e individuos asintomáticos que presentaron los alelos G y C para cada SNP, con ello se calcularon las frecuencias alélicas. Se obtuvo el OR (*Odds ratio*) con un intervalo de confianza de 95% (IC 95%), además se calculó la significancia mediante la prueba de χ^2 .

De manera general se observó una frecuencia elevada para el alelo G y baja para el alelo C en todos los grupos de estudio. Sin embargo, se obtuvieron diferencias no significativas al comparar a los grupos de pacientes contra el grupo control.

Cuadro 5. Distribución de las frecuencias alélicas del SNP *IL-6 -572* entre los diferentes grupos de estudio.

Grupo	Alelo	n (FA)	OR	IC 95%	p*
Asintomáticos	G	241 (0.63)	1.00		
	C	139 (0.37)			
Gastritis no atrófica	G	356 (0.60)	0.88	0.67 – 1.14	0.33
	C	234 (0.40)			
Metaplasia intestinal	G	95 (0.59)	0.84	0.58 – 1.23	0.37
	C	65 (0.41)			
Cáncer gástrico	G	216 (0.61)	0.92	0.68 – 1.24	0.56
	C	136 (0.39)			

*Prueba de χ^2 . FA: Frecuencia alélica. OR: *Odds Ratio*.

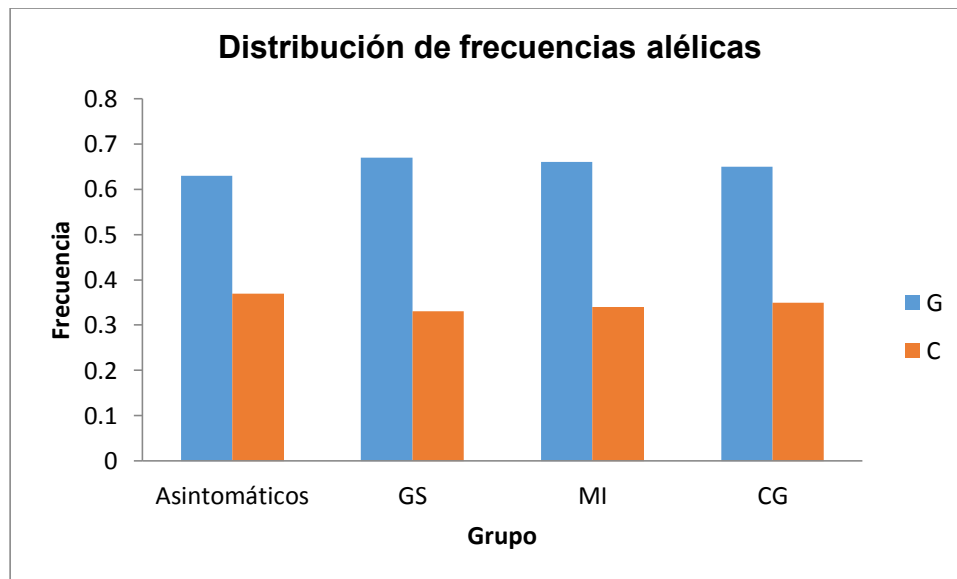


Gráfico 1. Histograma que muestra la distribución de frecuencias alélicas en los grupos de estudio para el SNP *IL-6 -572*.

Cuadro 6. Distribución de las frecuencias alélicas del SNP *IL-6* -174 entre los diferentes grupos de estudio.

Grupo	Alelo	n (FA)	OR	IC 95%	p*
Asintomáticos	G	341 (0.90)	1.00		
	C	39 (0.10)			
Gastritis no atrófica	G	542 (0.92)	1.24	0.80 – 1.93	0.34
	C	50 (0.08)			
Metaplasia intestinal	G	150 (0.93)	1.43	0.73 – 2.81	0.30
	C	12 (0.07)			
Cáncer gástrico	G	318 (0.90)	1.01	0.63 – 1.63	0.97
	C	36 (0.10)			

*Prueba de X^2 . FA: Frecuencia alélica. OR: Odds Ratio.

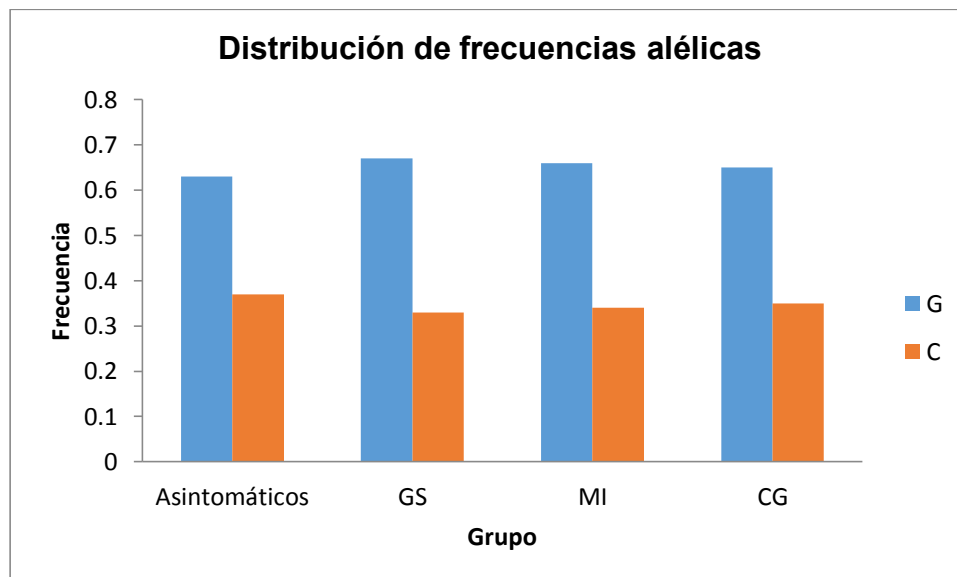


Gráfico 2. Histograma que muestra la distribución de frecuencias alélicas en los grupos de estudio para el SNP *IL-6* -174.

Cuadro 7. Distribución de las frecuencias alélicas del SNP *IL-6* 1807 entre los diferentes grupos de estudio.

Grupo	Alelo	n (FA)	OR	IC 95%	p*
Asintomáticos	G	239 (0.63)	1.00		
	C	141 (0.37)			
Gastritis no atrófica	G	399 (0.67)	1.22	0.93 – 1.60	0.15
	C	193 (0.33)			
Metaplasia intestinal	G	107 (0.66)	1.15	0.78 – 1.69	0.48
	C	55 (0.34)			
Cáncer gástrico	G	240 (0.65)	1.11	0.82 – 1.49	0.51
	C	128 (0.35)			

*Prueba de X^2 . FA: Frecuencia alélica. OR: *Odds Ratio*.

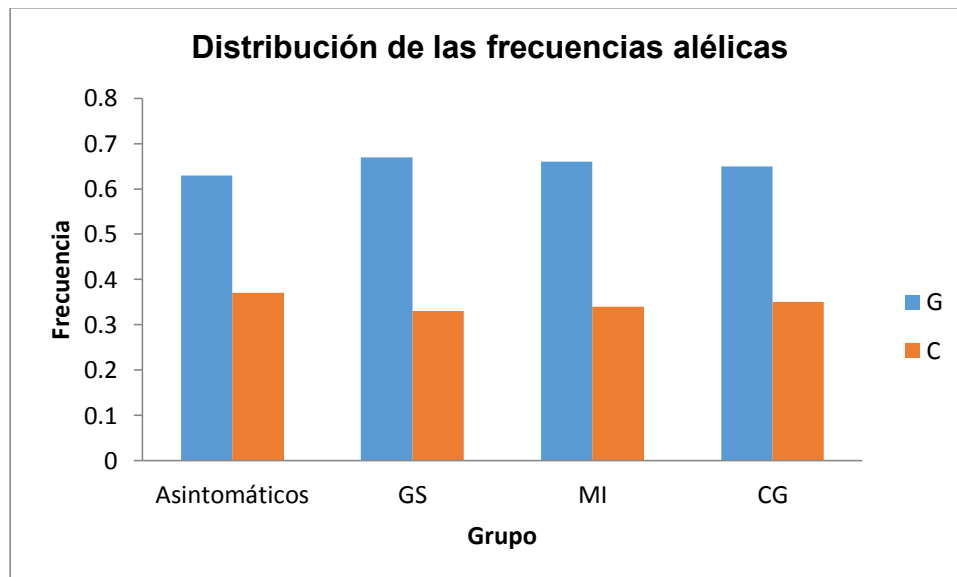


Gráfico 3. Histograma que muestra la distribución de frecuencias alélicas en los grupos de estudio para el SNP *IL-6* 1807.

Frecuencias genotípicas

El genotipo para cada SNP de *IL-6*, -572, -174 y 1807 fue clasificado en tres categorías: homocigoto G/G, heterocigoto C/G y homocigoto C/C. Al comparar las frecuencias genotípicas se encontró que el genotipo G/G fue más frecuente tanto en pacientes como en controles (**Cuadro 8**). Por otra parte, en general, no se observaron diferencias significativas entre los genotipos de pacientes contra asintomáticos.

Cuadro 8. Distribución de frecuencias genotípicas (FG) entre los diferentes grupos en estudio.

SNP	Genotipo	Asintomáticos n (FG)	Gastritis no atrófica n (FG)	Metaplasia intestinal n (FG)	Cáncer gástrico n (FG)
IL-6	G/G	75 (0.39)	141 (0.48)	31 (0.38)	79 (0.43)
	C/G	89 (0.47)	117 (0.39)	45 (0.56)	82 (0.44)
	C/C	26 (0.14)	38 (0.13)	5 (0.06)	23 (0.13)
-174	G/G	154 (0.81)	247 (0.83)	69 (0.85)	144 (0.81)
	C/G	33 (0.17)	48 (0.16)	12 (0.15)	30 (0.17)
	C/C	3 (0.02)	1 (0.01)	0 (0.0)	3 (0.02)
-572	G/G	76 (0.40)	111 (0.38)	29 (0.36)	66 (0.37)
	C/G	89 (0.47)	134 (0.45)	37 (0.46)	84 (0.48)
	C/C	25 (0.13)	50 (0.17)	14 (0.18)	26 (0.15)

Para el SNP *IL-6* -572 el grupo control se encontró en equilibrio de Hardy-Weinberg ($p=1.0$).

Cuadro 9. Asociación entre los genotipos del SNP *IL-6* -572 con los grupos de estudio.

Grupo	Referencia	Genotipo	OR	IC 95%	p^*
Gastritis no atrófica	GG	CG	0.97	0.65–1.44	0.88
		CC	0.73	0.42–1.28	0.27
Metaplasia intestinal	GG	CG	0.92	0.52–1.63	0.77
		CC	0.68	0.31–1.49	0.33
Cáncer gástrico	GG	CG	0.92	0.59–1.44	0.71
		CC	0.84	0.44–1.58	0.58

Cada caso se comparó contra el grupo control (OR=1.0)

*Prueba de X^2 . OR: *Odds Ratio*.

En el SNP *IL-6* -174 el grupo control también presentó equilibrio de Hardy-Weinberg ($p=0.62$).

Cuadro 10. Asociación entre los genotipos del SNP *IL-6* -174 con los grupos de estudio.

Grupo	Referencia	Genotipo	OR	IC 95%	p^*
Gastritis no atrófica	GG	CG	1.10	0.68 – 1.79	0.69
		CC	4.81	0.50 – 46.67	0.14
Metaplasia intestinal	GG	CG	1.23	0.60 – 2.53	0.57
Cáncer gástrico	GG	CG	1.03	0.60 – 1.77	0.92
		CC	0.94	0.19 – 4.71	0.94

Cada caso se comparó contra el grupo control (OR=1.0).

*Prueba de X^2 . OR: *Odds Ratio*

Así mismo, para el SNP *IL-6* 1807 el grupo control se encontró en equilibrio de Hardy-Weinberg ($p=1.0$).

Cuadro 11. Asociación entre los genotipos del SNP *IL-6* 1807 con los grupos de estudio.

Grupo	Referencia	Genotipo	OR	IC 95%	p^*
Gastritis no atrófica	GG	CG	1.43	0.97 – 2.12	0.07
		CC	1.29	0.73 – 2.28	0.38
Metaplasia intestinal	GG	CG	0.82	0.47 – 1.42	0.47
		CC	2.15	0.76 – 6.11	0.14
Cáncer gástrico	GG	CG	1.14	0.74 – 1.77	0.55
		CC	1.19	0.63 – 2.27	0.60

Cada caso se comparó contra el grupo control (OR=1.0).

*Prueba de X^2 . OR: Odds Ratio.

Frecuencias haplotípicas

Se realizaron los análisis de los posibles haplotipos formados con los SNP *IL-6* -572, -174 y 1807 mediante el programa *Haploview*, se obtuvieron sus frecuencias, su OR y su significancia.

Se compararon todos los grupos de pacientes juntos contra el grupo asintomático, así como cada uno por separado contra los controles, sin embargo, en ningún caso se encontró diferencia significativa entre las frecuencias haplotípicas de pacientes y controles.

De acuerdo a su posición en el cromosoma 7, los SNPs fueron acomodados de la siguiente manera: -572 (rs1800796), -174 (rs1800795) y 1807 (rs2069840).

Haplotipos de pacientes contra controles

Para calcular las frecuencias haplotípicas se emplearon 190 controles (380 alelos) y 547 pacientes (1094 alelos) en total.

Cuadro 12. Frecuencias haplotípicas en pacientes de todos los grupos de estudio contra controles.

Haplotipo <i>IL-6</i> -572, -174, 1807	Asintomáticos n (FH)	Pacientes n (FH)	OR	IC 95%	<i>p</i> *
CGG	136 (0.358)	410 (0.374)	1.08	0.84 – 1.37	0.58
GGC	138 (0.362)	349 (0.319)	0.82	0.64 – 1.05	0.12
GGG	66 (0.173)	223 (0.204)	1.22	0.90 – 1.65	0.19
GCG	36 (0.095)	88 (0.080)	0.84	0.56 – 1.26	0.36
CGC	2 (0.005)	18 (0.016)	3.16	0.73 – 13.69	0.09

*Prueba de X^2 .

FH: Frecuencia haplotípica.

OR: *Odds Ratio*.

Haplotipos de gastritis no atr6fica contra controles

Para calcular las frecuencias haplot6picas se emplearon 190 controles (380 alelos) y 294 pacientes con gastritis no atr6fica (588 alelos).

Cuadro 13. Frecuencias haplot6picas en pacientes de gastritis no atr6fica contra controles.

Haplotipo <i>IL-6</i> -572, -174, 1807	Asintomáticos n (FH)	Gastritis no atr6fica n (FH)	OR	IC 95%	<i>p</i> *
CGG	137 (0.360)	221 (0.375)	1.07	0.82–1.40	0.63
GGC	136 (0.359)	177 (0.301)	0.77	0.59–1.02	0.06
GGG	66 (0.173)	129 (0.220)	1.34	0.96–1.86	0.08
GCG	36 (0.096)	46 (0.078)	0.81	0.51–1.28	0.36
CGC	2 (0.005)	12 (0.021)	3.94	0.88-17.69	0.05

*Prueba de χ^2 .

FH: Frecuencia haplot6pica.

OR: *Odds Ratio*.

Haplotipos de metaplasia intestinal contra controles

Para calcular las frecuencias haplotípicas se emplearon 190 controles (380 alelos) y 80 pacientes con metaplasia intestinal (160 alelos).

Cuadro 14. Frecuencias haplotípicas en pacientes de metaplasia intestinal contra controles.

Haplotipo <i>IL-6</i> -572, -174, 1807	Asintomáticos n (FH)	Metaplasia intestinal n (FH)	OR	IC 95%	<i>p</i> *
CGG	138 (0.363)	62 (0.386)	1.11	0.76-1.62	0.61
GGC	137 (0.361)	52 (0.323)	0.85	0.57-1.26	0.39
GGG	65 (0.171)	32 (0.202)	1.21	0.76-1.94	0.38
GCG	36 (0.095)	11 (0.068)	0.71	0.35-1.42	0.29

*Prueba de X^2 .

FH: Frecuencia haplotípica.

OR: *Odds Ratio*.

Haplotipos de cáncer gástrico contra controles

Para calcular las frecuencias haplotípicas se emplearon 190 controles (380 alelos) y 172 pacientes con cáncer gástrico (344 alelos).

Cuadro 15. Frecuencias haplotípicas en pacientes de cáncer gástrico contra controles.

Haplotipo	Asintomáticos n (FH)	Cáncer gástrico n (FH)	OR	IC 95%	p^*
<i>IL-6</i> -572, -174, 1807					
CGG	137 (0.360)	129 (0.374)	1.06	0.79 – 1.44	0.69
GGC	139 (0.366)	118 (0.344)	0.91	0.67 – 1.23	0.53
GGG	65 (0.171)	61 (0.177)	1.04	0.71 – 1.53	0.83
GCG	35 (0.093)	30 (0.088)	0.94	0.56 – 1.57	0.82

*Prueba de X^2 .

FH: Frecuencia haplotípica.

OR: *Odds Ratio*.

Desequilibrio de ligamiento.

Se analizaron los diagramas de *Haploview* para el desequilibrio de ligamiento en controles y pacientes con base en los valores de r^2 . Sin embargo, ningún grupo presentó desequilibrio de ligamiento.

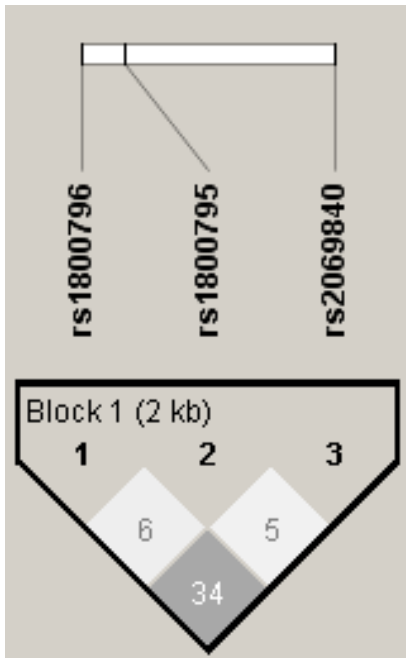


Fig. 5 Valores de r^2 en controles.

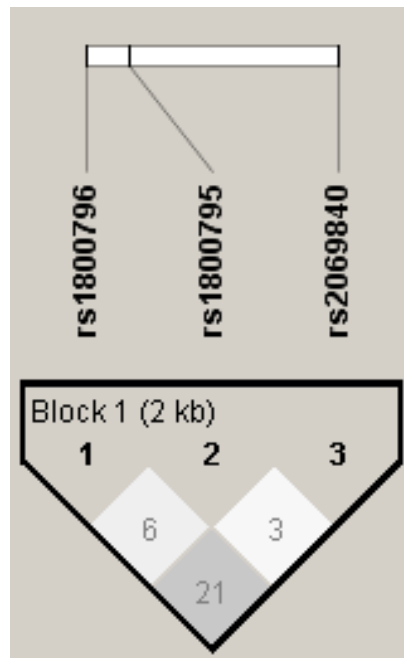


Fig. 6 Valores de r^2 en pacientes con gastritis superficial.

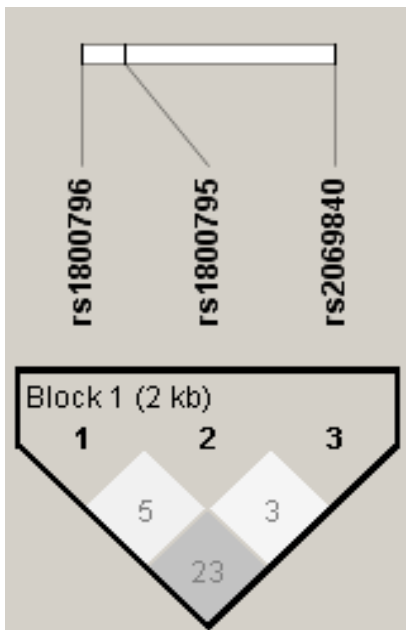


Fig. 7 Valores de r^2 en pacientes con metaplasia intestinal.

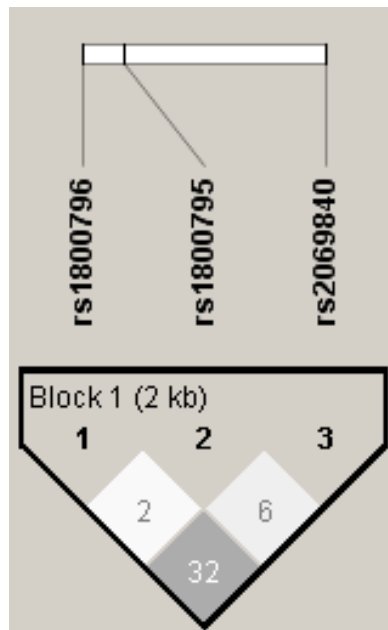


Fig. 8 Valores de r^2 en pacientes con cáncer gástrico.

8. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El CG es una enfermedad multifactorial, y el principal factor de riesgo para desarrollarlo es la infección por *H. pylori*, la cual afecta a más de la mitad de la población, pero solamente 1 a 3% de ellos evoluciona a cáncer.

La respuesta inmune a *H. pylori* es básicamente de tipo Th1, dentro del perfil de citocinas que exhiben estos linfocitos se encuentra la IL-6, una citocina pro y anti-inflamatoria, que junto con IL-1 y el TNF- α reclutan macrófagos para incrementar la inflamación en el sitio. Curiosamente, en los pacientes con CG se ha visto un incremento en los niveles séricos de IL-6.

Esta enfermedad afecta con mayor frecuencia a los hombres, pues en el sexo femenino se ha considerado que los estrógenos actúan como factores de protección, pero en este estudio se encontró mayor proporción de mujeres con CG **(Cuadro 3)**, tomando en cuenta lo anterior, esto podría sugerir que las mujeres son el grupo de pacientes que más acuden a revisión médica y que llevan a cabo su seguimiento clínico en el hospital. En cuanto a la edad, después de los 60 años es cuando suele presentarse, pues la evolución desde gastritis no atrófica, que en general se detecta a los 40 años, hasta cáncer es un proceso que involucra varias décadas.

Por otra parte, algunas variantes genéticas en el gen IL-6 se han asociado con la evolución de la infección de *H. pylori*, donde se sugiere que la presencia de éstas puede ser el mecanismo por el que los niveles de IL-6 incrementan y conducen a la inflamación crónica.

En el presente estudio se incluyeron pacientes con gastritis superficial, metaplasia intestinal y CG para comparar las asociaciones en el curso de la enfermedad. Los

SNPs fueron elegidos con base en su función, tomando en cuenta que la frecuencia del alelo menor (MAF, *Minor Allele Frequency*) fuera mínima de 10% para la población mexicana de los Ángeles, según la base de datos de los 1000 genomas, finalmente se contempló si se habían reportado previamente para CG u otras enfermedades.

En este trabajo no se encontraron diferencias significativas (p) en las frecuencias alélicas, genotípicas y haplotípicas entre controles y pacientes, por ende, tampoco variantes genéticas asociadas ni a riesgo ni a protección de cáncer gástrico. Algunos valores de OR resultaron superiores a 1.0, no obstante, sus intervalos de confianza indicaron que en realidad no representaban una asociación de riesgo. Cabe mencionar que los grupos de estudio se encontraron en equilibrio de Hardy-Weinberg, es decir, que su tipificación se llevó a cabo correctamente, además indica que la población no está sujeta a algún fenómeno evolutivo que altere sus frecuencias alélicas.

Tanto en pacientes como en controles el alelo más frecuente fue el G (**Gráfico 1-3**), el cual, es el alelo ancestral en los SNPs *IL-6* -572 y -174, pero es el alelo mutante del SNP *IL-6* 1807, probablemente la presencia de éste, favorece a la población de México; a diferencia de otras regiones de América y el mundo donde resulta ser el alelo menos frecuente.

Los SNPs *IL-6* -572 y -174 están localizados en la región promotora del gen (**Fig. 4**), por esa razón podrían asociarse con el riesgo a desarrollar cáncer gástrico, al alterar la afinidad de los factores de transcripción y de esa manera influir en la regulación del gen. Dado que en los resultados no se muestra asociación, se especula que la presencia de estos SNPs no afecta la expresión del gen por ese

mecanismo en el proceso de carcinogénesis gástrica. Al respecto, se ha documentado que el genotipo G/G del SNP *IL-6* -174 es un biomarcador de riesgo (**Cuadro 1**) para CG en población Finlandesa, donde la MAF (C) en asintomáticos es igual a 42% pero en pacientes con CG es de 8%, a diferencia de individuos asiáticos, los cuales no presentan diferencias significativas en sus frecuencias alélicas. Por otro lado, se ha mostrado que en poblaciones occidentales a comparación de las asiáticas, los genotipos C/G y G/G del SNP *IL-6* -572 aumentan el riesgo de desarrollar este cáncer (**Cuadro 2**), pues la frecuencia del alelo G es mayor en pacientes con CG que en controles. Con base en esas observaciones, puede decirse que la participación de estos polimorfismos cambia con el tipo de población.

El SNP *IL-6* 1807 se encuentra localizado en el intrón 3, una región no codificante, donde existen secuencias de DNA involucradas en el *splicing*, lo que da lugar a la formación de mRNA; no obstante, ciertos SNPs podrían cambiar esas secuencias y alterar el proceso de transcripción. En este estudio, no se encontró ninguna asociación significativa con los alelos y genotipos de este SNP, por lo tanto se sugiere que su presencia no afecta dicho proceso en los pacientes analizados. Cabe mencionar que no existe nada documentado previamente en relación de este SNP con CG, sin embargo, el alelo C se ha asociado significativamente con esclerosis múltiple en población española (Bonferroni $p=0.036$, OR=1.14, IC 95%1.04-1.25), una enfermedad en la que *IL-6* participa de manera crucial.⁷⁹

También se buscó la formación de haplotipos entre los SNPs de estudio, las frecuencias haplotípicas en general son bajas (**Cuadro 12**), y no existen diferencias significativas entre pacientes y controles, es decir, que el hecho de que una persona

posea cualquiera de esas combinaciones de alelos no lo hace estar en riesgo de desarrollar CG. Con base en los valores de r^2 se observó que no hay desequilibrio de ligamiento entre estos *loci* (**Fig. 5 – Fig. 8**), es decir que no se heredan juntos por su cercanía, pero posiblemente la formación de esos haplotipos esté dada por otros mecanismos como la recombinación y la variabilidad génica.

9. CONCLUSIONES

- Los SNPs -572 C/G, -174 C/G y 1807 C/G del gen IL-6 no participan como factores de riesgo ni de protección en el proceso de carcinogénesis gástrica, por lo que no pueden ser empleados clínicamente como biomarcadores.
- La presencia de los SNPs de estudio no aporta una explicación de porqué únicamente del 1 al 3% de los casos infectados con *H. pylori* desarrolla CG.

10. PERSPECTIVAS

Una diversidad de citocinas son liberadas en la respuesta inmune a *H. pylori*; entre ellas IL-6. Este estudio no mostró diferencias significativas de las frecuencias alélicas, genotípicas y haplotípicas entre pacientes y controles, sin embargo, podrían estudiarse polimorfismos de otros genes de citocinas liberadas por linfocitos Th1, que son los principales responsables de esta inmunidad, en conjunto con su expresión génica, mediante la obtención de RNA y cDNA, e incluso podría tornarse el rumbo de la investigación hacia el campo de la epigenética.

11. REFERENCIAS

1. Organización Mundial de la Salud. (Internet). 2014 (acceso 20 de noviembre de 2014). Cáncer. Disponible en: <http://www.who.int/topics/cancer/es/>
2. Fuentes PE, Camorlinga PM, Maldonado BC. Infección, inflamación y cáncer gástrico. *Salud Pública de México*. 2009;51(5):427-433.
3. Owen DA. Gastritis and carditis. *Modern pathology*. 2003;16(4):325-341.
4. Fox JG, Wang TC. Inflammation, atrophy, and gastric cancer. *J Clin Invest*. 2007;117(1):60-69.
5. Vannella L, Lahner E, Annibale B. Risk for gastric neoplasias in patients with chronic atrophic gastritis: a critical reappraisal. *World J Gastroenterol*. 2012;18(12):1279-1285.
6. Weledji EP, Orock JE, Ngowe MN. Intestinal metaplasia and anastomotic recurrence of gastric carcinoma. *J Gastrointest Oncol*. 2014;5(6):474-480.
7. Agencia Internacional de Investigación en Cáncer, Organización Mundial de la Salud. (Internet). 2015 (acceso 20 de enero de 2015). GLOBOCAN 2012: Estimated Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2012. Disponible en: http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_population.aspx
8. Shi J, Qu YP, Hou P. Pathogenetic mechanisms in gastric cancer. *World J Gastroenterol*. 2014; 20(38): 13804-13819.
9. Kato M, Asaka M. Recent development of gastric cancer prevention. *Jpn J Clin Oncol*. 2012;42(11):987-994.
10. Cover TL, Peek RM. Diet, microbial virulence, and *Helicobacter pylori*-induced gastric cancer. *Gut microbes*. 2013;4(6):482-493.
11. López CL, Hernández AM, Dubrow R. Chili pepper consumption and gastric cancer in Mexico: a case-control study. *Am J Epidemiol*. 1994;139(3):263-271.
12. American Cancer Society. (Internet). 2015 (acceso 15 de enero de 2015). Cáncer de estómago: guía detallada. Disponible en: <http://www.cancer.org/espanol/cancer/cancerdeestomago/guiadetallada/>
13. Poydock ME, Fardon JC, Gallina D, Ferro V, Heher C. Inhibiting effect of vitamins C and B12 on the mitotic activity of ascites tumors. *Exp Cell Biol*. 1979;47(3):210-217.
14. Palace VP, Khaper N, Quin Q, Singal PK. Antioxidant potentials of vitamin A and carotenoids and their relevance to heart disease. *Free Radic Biol Med*. 1999;26(6):746-761.
15. Rousseau EJ, Davison AJ, Dunn B. Protection by beta-carotene and related compounds against oxygen-mediated cytotoxicity and genotoxicity: implications for carcinogenesis and anticarcinogenesis. *Free Radic Biol Med*. 1992;13(4):407-433.

16. Buas MF, Vaughan TL. Epidemiology and risk factors for gastroesophageal junction tumors: understanding the rising incidence of this disease. *Semin Radiat Oncol.* 2013;23(1):1-17.
17. D'Angelo G, Di Rienzo T, Ojetti V. Microarray analysis in gastric cancer: A review. *World J Gastroenterol.* 2014;20(34):11972-11976.
18. Blaser MJ, Chyou PH, Nomura A. Age at establishment of *Helicobacter pylori* infection and gastric carcinoma, gastric ulcer, and duodenal ulcer risk. *Cancer Research.* 1995;55: 562-565.
19. Haile RW, John EM, Levine AJ, Cortessis VK, Unger JB, Gonzales M, *et al.* A review of cancer in U.S. Hispanic populations. *Cancer Prev Res.* 2012;5(2):150-163.
20. Chang ET, Gomez SL, Fish K, Schupp CW, Parsonnet J, DeRouen MC, *et al.* Gastric cancer incidence among Hispanics in California: patterns by time, nativity, and neighborhood characteristics. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2012;21(5):709-719.
21. Otero RW, Gómez MA, Castro D. Carcinogénesis gástrica. *Rev Col Gastroenterol.* 2009;24(3):314-329.
22. Oluwasola AO. Genetic determinants and clinico-pathological outcomes of *Helicobacter pylori* infection. *Ann Ibd. Pg. Med.* 2014;12(1):22-30.
23. Chang WJ, Du Y, Zhao X, Ma LY, Cao GW. Inflammation-related factors predicting prognosis of gastric cancer. *World J Gastroenterol.* 2014;20(16):4586-4596.
24. Figueiredo CA, Rodrigues MC, Dos Santos CR, Da Silva HB, Alcantara NNM. Cytokines, cytokine gene polymorphisms and *Helicobacter pylori* infection: Friend or foe? *World J Gastroenterol.* 2014;20(18):5235-5243.
25. Liao F, Hsu YC, Kuo SH, Yang YC, Chen JP, Hsu PN, *et al.* Genetic polymorphisms and tissue expression of interleukin-22 associated with risk and therapeutic response of gastric mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma. *Blood Cancer Journal.* 2014;4:1-7.
26. Yu H, Sun S, Liu F, Xu QH. Meta-analysis of associations between interleukin-17 gene polymorphisms and risk of gastric cancer. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2014;15(20):8709-8713.
27. Hayashi R, Tahara T, Shiroeda H, Matsue Y, Minato T, Nomura T, *et al.* Association of genetic polymorphisms in IL-17A and IL-17F with gastro-duodenal diseases. *J Gastrointestin Liver Dis.* 2012;21(3):243-249.
28. Zhang X, Zheng L, Sun Y, Zhang X. Analysis of the association of interleukin-17 gene polymorphisms with gastric cancer risk and interaction with *Helicobacter pylori* infection in a Chinese population. *Tumour Biol.* 2014;35(2):1575-1580.

29. Wang N, Yang J, Lu J, Qiao Q, Bao G, Wu T, *et al.* IL-17 gene polymorphism is associated with susceptibility to gastric cancer. *Tumour Biol.* 2014;35(10):10025-10030.
30. Ren Z, Li M, Liu R, Wang Y, Gu H. Interleukin 17A rs3819024 A>G polymorphism is associated with an increased risk of gastric cardia adenocarcinoma in a Chinese population. *Biomarkers.* 2014;19(5):411-416.
31. Qinghai Z, Yanying W, Yunfang C, Xukui Z, Xiaogiao Z. Effect of interleukin-17A and interleukin-17F gene polymorphisms on the risk of gastric cancer in a Chinese population. *Gene.* 2014;537(29):328-332.
32. Arisawa T, Tahara T, Shiroeda H, Matsue Y, Minato T, Nomura T, *et al.* Genetic polymorphisms of IL17A and pri-microRNA-938, targeting IL17A 3'-UTR, influence susceptibility to gastric cancer. *Hum Immunol.* 2012;73(7):747-752.
33. El-Omar EM. The importance of interleukin 1 β in *Helicobacter pylori* associated disease. *Gut.* 2001;48:743-747.
34. Garza GE, Bosques PFJ, El-Omar EM, Hold G, Tijerina MR, Maldonado GHJ, *et al.* Role of the polymorphic IL-1 β , IL-1RN and TNFa genes in distal gastric cancer in Mexico. *Int J Cancer.* 2005;114(2):237-241.
35. Lee KE, Khoi PN, Xia Y, Park JS, Joo YE, Kim KK, *et al.* *Helicobacter pylori* and interleukin-8 in gastric cancer. *World J Gastroenterol.* 2013;19(45):8192-8202.
36. Cai X, Hu W, Zhang B, Dai N, Xu R, Qiu H, *et al.* Genotyping of IL-8 -251 T>A yields prognostic information in patients with gastric carcinoma. *Biomarkers.* 2013; 18(7): 559-564.
37. Sugimoto M, Yamaoka Y, Furuta T. Influence of interleukin polymorphisms of development of gastric cancer and peptic ulcer. *World J Gastroenterol.* 2010;16(10):1188-1200.
38. Pohjanen VM, Koivurova OP, Makinen JM, Karhukorpi JM, Joensuu T, Koistinen PO, *et al.* Interleukin 6 polymorphism -174 is associated with the diffuse type gastric carcinoma. *Genes, chromosomes and cancer.* 2013;52:976-982.
39. Yin YW, Sun QQ, Hu AM, Wang Q, Liu HL, Hou ZZ, *et al.* Associations between interleukin-6 gene -174 C/G and -572 C/G polymorphisms and the risk of gastric cancer: a meta-analysis. *J Surg Oncol.* 2012;106(8):987-993.
40. Gatti LL, Burbano RR, Zambaldi TM, DeLábio RW, De Assumpção PP, De Arruda CSM, *et al.* Interleukin-6 polymorphisms, *Helicobacter pylori* infection in adult brazilian patients with chronic gastritis and gastric adenocarcinoma. *Arch Med Res.* 2007;38(5):551-555.
41. Yamaoka Y, Kita M, Kodama T, Sawai N, Imanishi J. *Helicobacter pylori* cagA gene and expression of cytokine messenger RNA in gastric mucosa. *Gastroenterology.* 1996;110(6):1744-1752.

42. Chiurillo MA. Role of gene polymorphisms in gastric cancer and its precursor lesions: current knowledge and perspectives in Latin American countries. *World J Gastroenterol.* 2014;20(16):4505-4515.
43. Zabaleta J, Constanza M, Ritchie MD, Blanca M, Sierra RA, Turner SD, *et al.* Association of haplotypes of inflammation related genes with gastric preneoplastic lesions in African Americans and Caucasians. *Int J Cancer.* 2011;128(3):668-675.
44. Yin Y, Si X, Gao Y, Gao L, Wang J. The nuclear factor-kB correlates with increased expression of interleukin-6 and promotes progression of gastric carcinoma. *Oncology reports.* 2013;29:34-38.
45. Torres J, Leal HY, Pérez PG, Gómez A, Camorlinga PM, Cedillo RR, *et al.* A community-based seroepidemiologic study of *Helicobacter pylori* infection in Mexico. *JID.* 1998;178:1089-1090.
46. Mohar A, Ley C, Guarner J, Herrera GR, Sánchez L, Halperin D. Alta frecuencia de lesiones precursoras de cáncer gástrica asociadas a *Helicobacter pylori* y respuesta al tratamiento, en Chiapas, México. *Gac Méd Mex.* 2002;138(5):405-410.
47. Cavalcante DVC, Valente VR, Souza DS, Pontes DLC, Lima BM, Alcántara NNM. Seroprevalence and potential risk factors for *Helicobacter pylori* infection in Brazilian children. *Helicobacter.* 2010;15:273-278.
48. Goh KL, Chan WK, Shiota S, Yamaoka Y. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection and public health implications. *Helicobacter.* 2011;16(1):1-9.
49. Klein PD, Graham DY, Gaillour A, Opekun AR, Smith EO. Water source as risk factor for *Helicobacter pylori* infection in Peruvian children. *Gastrointestinal physiology working group. Lancet.* 1991;337(8756):1503-1506.
50. Serrano A, Candelaria HM, De la Garza SJ, Alonso HL. *Helicobacter pylori* y cáncer gástrico. *Cancerología.* 2009;4:193-204.
51. Testerman TL, Morris J. Beyond the stomach: An updated view of *Helicobacter pylori* pathogenesis, diagnosis, and treatment. *World J Gastroenterol.* 2014;20(36):12781-12808.
52. Higashi H, Tsutsumi R, Muto S, Sugiyama T, Azuma T, Asaka M, *et al.* SHP-2 tyrosine phosphatase as an intracellular target of *Helicobacter pylori* Cag A protein. *Science.* 2002;295(5555):683-686.
53. Backert S, Clyne M. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter.* 2011;1:19-25.
54. Backert S, Clyne M, Tegtmeyer N. Molecular mechanisms of gastric epithelial cell adhesion and injection of CagA by *Helicobacter pylori*. *Cell Commun Signal.* 2011;9:1-11.
55. Cover TL, Blanke SL. *Helicobacter pylori* VacA, a paradigm for toxin multifunctionality. *Nat Rev Microbiol.* 2005;3(4):320-332.

56. Posselt G, Backert S, Wessler S. The functional interplay of *Helicobacter pylori* factors with gastric epithelial cells induces a multi-step process in pathogenesis. *Cell Commun Signal*. 2013;11:1-14
57. Aberg A, Gideonsson P, Vallstrom A, Olofsson A, Ohman C, Rakhimova L, *et al*. A repetitive DNA element regulates expression of the *Helicobacter pylori* sialic acid binding adhesion by a rheostat-like mechanism. *Plos One*. 2014;10(7):1-20.
58. Shoep TD, Fulurija A, Good F, Lu W, Himbeck RP, Schwan C, *et al*. Surface properties of *Helicobacter pylori* urease complex are essential for persistence. *Plos One*. 2010;5(11):1-8.
59. Volland P, Weeks DL, Marcus EA, Prinz C, Sachs G, Scott D. Interactions among the seven *Helicobacter pylori* proteins encoded by the urease gene cluster. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2003;284:96-106.
60. Lawrence T, Willoughby DA, Gilroy DW. Anti-inflammatory lipid mediators and insights into the resolution of inflammation. *Nat Rev Immunol*. 2002;2(10):787-795.
61. Kumar H, Kawai T, Akira S. Pathogen recognition by the innate immune system. *Int Rev Immunol*. 2011;30(1):16-34.
62. Schmausser B, Andrulis M, Endrich S, Müller HHK, Eck M. Toll-like receptors TLR4, TLR5 and TLR9 on gastric carcinoma cells: an implication for interaction with *Helicobacter pylori*. *Int J Med Microbiol*. 2005;295(3):179-185.
63. Taylor JM, Ziman ME, Canfield DR, Vajdy M, Solnick JV. Effects of a Th1 versus a Th2 biased immune response in protection against *Helicobacter pylori* challenge in mice. *Microb Pathog*. 2008;44(1):20-27.
64. Martínez BF, Castillo RG, Ponce de León S, López VY. IgG subclasses against *Helicobacter pylori* isolates: An important tool for disease characterization. *Scandinavian Journal of Immunology*. 2012;76:26-32.
65. Zhuang Y, Shi Y, Liu XF, Zhang JY, Liu T, Fan X, *et al*. *Helicobacter pylori* infected macrophages induce Th17 cell differentiation. *Immunobiology*. 2011;216:200-207.
66. Ben SSZ, Hu LJ, Quiel J, Cauchetaux S, Ratner M, Shapira I, *et al*. IL-1 acts directly on CD4 T cells to enhance their antigen-driven expansion and differentiation. *PNAS*. 2009;106(17):7119-7124.
67. Cheng HH, Tseng GY, Yang HB, Wang HJ, Lin HJ, Wand WC. Increased numbers of Foxp3-positive regulatory T cells in gastritis, peptic ulcer and gastric adenocarcinoma. *World J Gastroenterol*. 2012;18(1):34-43.
68. Akira S, Hirano T, Taga T, Kishimoto T. Biology of multifunctional cytokines: IL-6 and related molecules (IL-1 and TNF). *The FASEB Journal*. 1990;4:2860-2867.
69. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. *Inmunología celular y molecular*. 6ª ed. Madrid: Elsevier, 2011:267-301.

70. Regueiro GJR, López LC, González RS, Martínez NE. Inmunología, biología y patología del sistema inmune. 3ª ed. Madrid: Médica Panamericana, 2003:111-120.
71. Kinoshita H, Hirata Y, Nakagawa H, Sakamoto K, Hayakawa Y, Takahashi R, *et al.* Interleukin-6 mediates epithelial-stromal interactions and promotes gastric tumorigenesis. *Plos One*. 2013;8(4):1-10.
72. Scheller J, Chalaris A, Schmidt AD, Rose JS. The pro- and anti-inflammatory properties of the cytokine interleukin-6. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2011;1813:878-888.
73. Ancrile B, Lim KH, Counter CM. Oncogenic Ras-induced secretion of IL6 is required for tumorigenesis. *Genes and development*. 2007;21:1714-1719.
74. Duraes C, Moreira CS, Alvelos I, Mendes A, Santos LR, Machado JC, *et al.* Polymorphisms in the TNFA and IL6 genes represent risk factors for autoimmune thyroid disease. *Plos One*. 2014;9(8):1-6.
75. PubMed. (Internet). 2014. (acceso 16 de diciembre de 2014). Gene IL-6. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/3569>
76. Lewin B. *Genes*. USA: Pearson Prentice Hall, 2004:301-329.
77. Kim BC, Kim WY, Park D, Chung WH, Shin K, Bhak J. SNP@Promoter: a database of human SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms) within the putative promoter regions. *BMC Bioinformatics*. 2008;9:1-5.
78. Ramírez BJ, Vargas AG, Tovilla ZC, Fragoso JM. Polimorfismos de un solo nucleótido (SNP): implicaciones funcionales de los SNP reguladores (rSNP) y de los SNP-ARN estructurales (srSNP) en enfermedades complejas. *Gac Méd Mex*. 2013;149:220-228.
79. Cénit MC, Simeón CP, Vonk MC, Callejas JL, Espinosa G, Carreira P, *et al.* Influence of the IL-6 gene in susceptibility to systemic sclerosis. *J Rheumatol*. 2012. 39(12):2294-2302.