

## Variantes alélicas de CYP1A1 y GSTM1 como biomarcadores de susceptibilidad a cáncer gástrico: influencia de los hábitos tabáquico y alcohólico

Kuen Lee<sup>1,4</sup>, Dante Cáceres<sup>2a</sup>, Nelson Varela<sup>1b</sup>, Atila Csentes D<sup>3</sup>, Horacio Ríos R<sup>4</sup>, Luis Quiñones S<sup>1c</sup>.

*Cytochrome P4501A1 (CYP1A1), glutathione S transferase M1 (GSTM1) polymorphisms and their association with smoking and alcohol consumption as gastric cancer susceptibility biomarkers*

**Background:** Gastric cancer (GaC) is the second cause of death by cancer in the world and one of the first causes in Chile. However, the burden of this disease shows remarkable worldwide variation probably explained by environmental and genetic factors. The role of susceptibility low penetrance genes and environmental and dietary factors in the etiology of gastric cancer is not well-known. **Aim:** To analyze the possible association between CaG susceptibility, genetic (CYP1A1 and GSTM1 polymorphisms) and environmental (tobacco and alcohol) factors. **Patients and Methods:** In a case-control study, we included 73 patients with a pathologically diagnosed GaC and 263 controls. DNA was extracted from peripheral blood to detect allele variants for CYP1A1 and GSTM1, using polymerase chain reactions and digestion with restriction enzymes. **Results:** There was a clear association of smoking and alcohol ingestion with GaC with odds ratios (OR) of 2.54 (95% confidence intervals (CI) of 1.45-4.46 and OR of 3.36 (95% CI 1.76-6.41), respectively. Polymorphic variants of CYP1A1 and GSTM1 had no association with GaC. However, the m2 variant of CYP1A1 significantly modifies the risk induced by tobacco or alcohol (OR 13.65; 95% CI 3.15-59.05 y 8.37; 95% CI 1.86-37.64, respectively). **Conclusions:** Subjects that carry the m2 allelic variant of CYP1A1 and are exposed to tobacco smoke or alcohol have a significantly higher risk of developing gastric cancer (Rev Méd Chile 2006; 134: 1107-15). **(Key words:** Alcohol consumption; Cytochrome P-450 CYP1A1; Smoking; Stomach neoplasms)

Recibido el 21 septiembre, 2005. Aceptado el 24 marzo, 2006.

Financiamiento: Proyecto FAI-MED-001-06

<sup>1</sup>Laboratorio de Carcinogénesis Química y Farmacogenética, Programa de Farmacología Molecular y Clínica, ICBM y <sup>2</sup>División de Epidemiología, Escuela de Salud Pública, Facultad de Medicina. <sup>3</sup>Departamento de Cirugía, Hospital Clínico, Universidad de Chile.

<sup>4</sup>Universidad de los Andes, Departamento de Cirugía, Hospital Militar de Santiago.

<sup>a</sup>Médico Veterinario, Magíster en Salud Pública.

<sup>b</sup>Tecnólogo Médico, Magíster en Bioquímica, Estudiante de Doctorado.

<sup>c</sup>Bioquímico, Doctor en Ciencias Biomédicas.

*Correspondencia a:* Luis Quiñones Sepúlveda. Laboratorio de Carcinogénesis Química y Farmacogenética, Programa de Farmacología Molecular y Clínica, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. Casilla 70000, Santiago 7, Chile. Teléfono: 562 9786376. E mail: lquinone@med.uchile.cl

El cáncer gástrico (CaG) es uno de los cánceres más frecuentes después del cáncer de colon y la segunda causa de muerte en el mundo después del cáncer pulmonar, correspondiendo aproximadamente a 10% de todos los cánceres<sup>1,2</sup>. Afecta indistintamente a ambos sexos, con tasas inferiores en el sexo femenino en todas las edades y rara vez ocurre antes de los 50 años de edad, con excepción de Japón. Sin embargo, en las últimas décadas ha habido importantes variaciones, apareciendo cada vez con mayor frecuencia en pacientes más jóvenes, incluso menores de 40 años. Entre los factores reconocidos de riesgo, figuran la gastritis crónica atrófica con metaplasia intestinal, la infección por *Helicobacter pylori*, las dietas ricas en alimentos salados, ahumados o secos, el tabaquismo, la anemia perniciosa, la enfermedad de Menetrier, la poliposis familiar, el sexo masculino y la edad avanzada<sup>3-5</sup>.

La incidencia de cáncer gástrico en Chile es una de las más altas del mundo, junto con Japón, Costa Rica y Singapur. Aun cuando la tasa de mortalidad por esta causa ha disminuido desde la década 1960-69 a la fecha (35,8 a 18,94 por 100.000 habitantes), Chile aún presenta una elevada tasa de esta patología, especialmente en la región de la Araucanía<sup>6,7</sup>. De acuerdo a Medina y Kaempffer (2001), la probabilidad media de que un chileno muera por cáncer de estómago es de alrededor de 3%, transformando a esta enfermedad en un problema de salud pública importante<sup>8</sup>.

El papel de los factores genéticos ha sido ampliamente estudiado en la etiología del CaG. Estos últimos explicarían una variabilidad de un orden de 10 veces, dependiendo del área geográfica involucrada<sup>3</sup>. Estudios de agregación familiar, han determinado un rango de 50 a 130% de exceso de riesgo en individuos con historia familiar de cáncer gástrico, especialmente con el antecedente materno, así como factores hereditarios de cáncer colorrectal y síndrome de Li-Fraumeni<sup>9,10</sup>. Sin embargo, se requiere cautela en estos análisis, ya que se ha descrito sesgos de selección e información<sup>11,12</sup>.

Diferentes polimorfismos genéticos en enzimas de biotransformación han sido investigados, entre ellos algunos relacionados con grupos sanguíneos, citoquinas y algunos alelos asociados a la presencia de *Helicobacter pylori*<sup>13-18</sup>. Entre las isoenzimas más estudiadas con relación a cáncer,

se encuentran las de fase 1 monooxigenasas citocromo P450 (CYP2D6, CYP2C19, CYP17 y CYP1A1), involucradas en la biotransformación de xenobióticos tales como: hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs), nitrosaminas y dioxinas, como las que se encuentran en el humo del tabaco<sup>19</sup> y las de fase 2 glutatión transferasa (GST), entre las que destacan las GSTM1 (GSTmu) y GSTT1 (GSTpi) involucradas en la desintoxicación de compuestos potencialmente carcinogénicos<sup>20-25</sup>.

Recientemente, se ha planteado la hipótesis que CYP1A1 sería activada en etapas tempranas del proceso gastro-carcinogénico a través de procesos oncogénicos, indicando que sería un paso crítico necesario, en el largo plazo, para la bioactivación de factores carcinogénicos, que producirían alteraciones genéticas en las células impactadas<sup>26-28</sup>. Por lo tanto, la expresión de CYP1A1 puede ser un importante factor de riesgo en individuos expuestos a xenobióticos presentes en humo de tabaco. Por otra parte, GSTM1 metaboliza estos carcinógenos ambientales activándolos y conjugándolos, por lo tanto, las variantes polimórficas de esta enzima pueden estar asociadas a un riesgo aumentado de cáncer gástrico<sup>29</sup>. A su vez, se ha propuesto que el consumo de alcohol induciría y suprimiría genes responsables del metabolismo de xenobióticos como los HAPs incrementando la formación de aductos a nivel del ADN<sup>30-32</sup>.

A pesar de la evidencia de expresión de enzimas citocromo P450 en la metaplasia gástrica intestinal y en el adenocarcinoma gástrico, así como estudios en japoneses y chinos que han asociado el genotipo nulo M1 de GST con cáncer gástrico, no existen antecedentes a nivel nacional respecto de polimorfismos en estos genes y de su asociación con riesgo de cáncer gástrico<sup>27,33-35</sup>. En este estudio proponemos evaluar la posible interacción de polimorfismos en enzimas de metabolización de xenobióticos GSTM1 y CYP1A1, con la exposición a alcohol y tabaco y la relación de esta interacción con el riesgo de cáncer gástrico.

#### PACIENTES Y MÉTODOS

*Pacientes y toma de muestras.* Se realizó un estudio de base hospitalaria con 73 casos con cáncer

gástrico histológicamente determinado y 263 controles, pesquisados de los Servicios de Gastroenterología del Hospital Militar, J.J. Aguirre y San Borja Arriarán. La edad promedio de ambos grupos fue similar ( $p = 0,06$ ), siendo para el grupo control de  $62,50 \pm 13,5$  (22-91) y para los casos de  $66,034 \pm 13,4$  (39-94). El 68% de los casos y 78% de los controles eran de sexo masculino, siendo esta diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0,05$ ).

La evaluación de los pacientes y controles incluyó ficha clínica con datos personales, grupo sanguíneo, hábito de fumar, consumo de alcohol y antecedentes de morbilidad personal y familiar. Se consideró bebedores a aquellas personas que ingieren regularmente el equivalente a un promedio superior a dos copas de vino al día (400 ml). Para la definición del hábito tabáquico se consideró fumador a aquellas personas con un SI (*Smoking Index* o índice de Brinkman) mayor o igual a 801<sup>36</sup> (cigarrillos por año). Los fumadores actuales y ex-fumadores recientes (menos de 1 año) al momento del estudio fueron considerados como fumadores. Cada uno de los participantes debió firmar un consentimiento informado. El estudio fue aprobado por el Comité de Ética de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile.

**Análisis genotípico.** Para examinar los polimorfismos de interés, se aisló ADN genómico total de sangre periférica y se utilizó amplificación por PCR (reacción en cadena de la polimerasa) y posterior digestión con enzimas de restricción.

**CYP1A1:** Para la detección del polimorfismo Msp1, la amplificación por PCR fue llevada a cabo utilizando los partidores C44 y C47<sup>37</sup>, que amplifican un fragmento de 340 pb (pares de base).

**GSTM1:** La delección del gen GSTM1 fue determinada usando los partidores descritos por Ambrosone et al (1995), en forma simultánea con los partidores Msp1, de modo de usarlos como control interno de amplificación<sup>38</sup>. La presencia del genotipo nulo de GSTM1 fue determinada por la ausencia de un fragmento de 273 pb, postamplificación, observada en un gel de agarosa 2% con bromuro de etidio y análisis bajo luz ultravioleta.

**Digestión con enzima de restricción Msp1.** Los productos de PCR fueron sometidos a digestión

por la enzima de restricción Msp1 a 37°C por 4 h (GIBCO BRL, *Life Technologies*, Inc., Gaithersburg, MD). El resultado de esta digestión fue analizado bajo luz ultravioleta en geles de agarosa 2% o acrilamida 6% (*Biorad Lab.*, Richmond, CA), según requerimiento de resolución de bandas. La presencia del alelo infrecuente m2 se pudo apreciar por la aparición de dos bandas de 200 y 140 pb, productos de la digestión de la banda de 340 pb que denota el alelo silvestre.

**Nomenclatura de polimorfismos.** Para CYP1A1 el alelo silvestre se denomina m1 y el alelo raro m2. Para GSTM1 el genotipo nulo (GSTM1 (-)) corresponde a la delección homocigota del gen que genera ausencia de expresión y por tanto, de actividad catalítica; el genotipo presente (GSTM1 (+)) corresponde a la variante más frecuente, conocida como silvestre y que posee el gen activo (homocigoto o heterocigoto).

**Estadística.** Las frecuencias genotípicas para GSTM1 y CYP1A1 fueron calculadas como la proporción de individuos con un genotipo dado, dividido por el número total de participantes y se realizaron pruebas para analizar las potenciales desviaciones del equilibrio de Hardy-Weinberg, comparando los genotipos observados con los esperados, usando el test de  $\chi^2$ . Los test de  $\chi^2$  se utilizaron también para comparar la prevalencia de los diferentes genotipos para GST y CYP1A1 entre pacientes y controles. La interacción entre los genes, los factores ambientales y su asociación con cáncer gástrico, fue evaluada utilizando tablas de contingencia de 2 por 4<sup>39</sup>. Las interacciones fueron estimadas usando como referencia una combinación genotípica-ambiental de bajo riesgo (variantes CYP1A1 m1m1 o GSTM1 presente en individuos no fumadores y no bebedores, respectivamente). El riesgo conjunto estimado entre los portadores de los genotipos susceptibles en fumadores y bebedores, comparado con los no portadores que ni fuman ni beben y el CaG fue evaluado por *Odds Ratios* (ORs), ajustados por edad y sexo, usando un modelo de regresión logística no condicional. La precisión fue estimada calculando intervalos de confianza de 95%. Todos los análisis estadísticos fueron realizados usando el software STATA 7.0<sup>40</sup>.

RESULTADOS

La Figura 1 muestra los resultados de genotipificación simultánea de CYP1A1 y GSTM1 para 6 muestras de ADN de pacientes con cáncer gástrico en un gel de agarosa a 2%. En esta figura se observan diferentes alternativas genotípicas para ambas enzimas. La ausencia de una banda de 273 pb denota el genotipo nulo de GSTM1 (pacientes D, E y F). La digestión de la banda de amplificación de 340 pb, correspondiente a un fragmento del gen CYP1A1 y aparición de bandas de 200 y

140 pb. (pares de bases) denota la presencia de la variante m2, en forma heterocigota (pacientes B y E) u homocigota (paciente F).

La Tabla 1 muestra los resultados generales para los análisis estadísticos de riesgo, ajustados por la edad y sexo de los individuos. En ella se puede apreciar que para el gen CYP1A1, ninguno de los genotipos por sí solo representa un riesgo estadísticamente significativo. Del mismo modo, la ausencia del gen GSTM1 no conduce a un riesgo aumentado de cáncer gástrico. El consumo de alcohol, por su parte, presenta mayor frecuencia

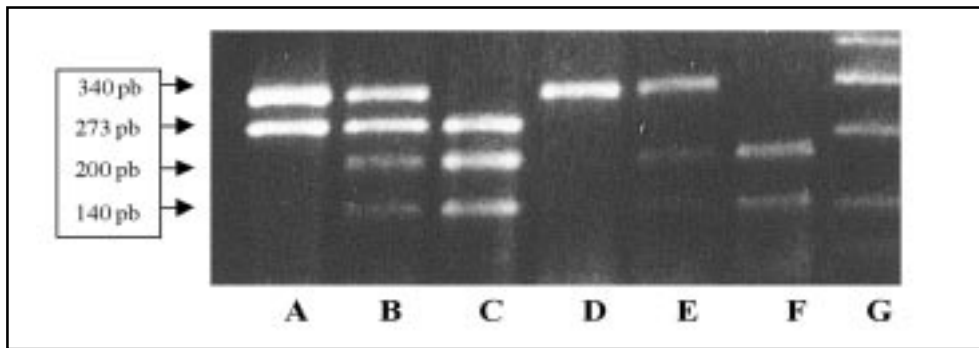


Figura 1. Análisis genotípico para CYP1A1 y GSTM1 de 6 pacientes con cáncer gástrico (A a F). A: Genotipo m1m1 y GSTM1(+), B: Genotipo m1m2 y GSTM1(+), C: Genotipo m2m2 y GSTM1(+), D: Genotipo m1m1 y GSTM1(-), E: Genotipo m1m2 y GSTM1(-), F: Genotipo m2m2 y GSTM1(-), G: Estándar de ADN.

**Tabla 1. Asociación de polimorfismos genéticos de CYP1A1 y GSTM1, consumo de alcohol y hábito tabáquico, con riesgo de cáncer gástrico**

	Casos (%)	Controles (%)	ORa	95% IC
CYP1A1				
m2m2	8 (10,8)	26 (9,8)	1,23	0,49-3,03
m1m2	27 (36,5)	84 (32,2)	1,11	0,61-2,01
m1m1	38 (52,7)	153 (60,0)	1	
GSTM1				
nulo	13 (18,9)	56 (21,2)	0,81	0,41-1,62
presente	60 (81,1)	207 (78,8)		
Alcohol				
Sí	32 (43,8)	75 (28,5)	3,36	1,76-6,41
No	41 (56,2)	188 (71,5)	1	
Tabaco				
Sí	42 (57,5)	102 (38,6)	2,54	1,45-4,46
No	31 (42,5)	161 (61,4)	1	

ORa: *Odds Ratio* ajustado por edad y sexo; IC: Intervalo de confianza.

en los casos (43,8%) respecto de los controles (28,5%), lo que representa un riesgo aumentado de la patología (OR: 3,36; IC 95% 1,76-6,41) estadísticamente significativo. Del mismo modo, el hábito tabáquico por sí solo genera un riesgo significativamente mayor de presentar la patología (OR: 2,54; IC 95% 1,45-4,46).

En la Tabla 2, se presenta la evaluación de las interacciones entre genotipos y los factores ambientales estudiados en pacientes con CaG. Como puede observarse, los efectos conjuntos para individuos portadores de genotipos susceptibles de CYP1A1 (m1m2 y m2m2) presentaron valores de OR elevados (OR: 2,77; IC 95% 1,06-7,25 y 13,65; IC 9% 3,15-59,05) cuando fueron evaluados en conjunto con el hábito alcohólico, con respecto a aquellos individuos portadores de estas variantes, pero que no consumen alcohol (OR: 1,39; IC 95% 0,68-3,39 y 0,62; IC 95% 0,14-2,20) o respecto de la población general (OR: 1,11; IC 95% 0,61-1,99 y 1,23; IC 95% 0,49-3,04, Tabla 1). Por otro lado, la presencia del genotipo nulo de GSTM1 parece no modificar el riesgo de cáncer gástrico, dado que el valor observado en individuos bebedores con genotipo nulo (OR: 3,36) es idéntico al observado para el alcohol por sí solo (OR: 3,36, Tabla 1).

En la Tabla 3 se puede apreciar que, en individuos fumadores, la presencia de los genotipos m2m2 y m1m2 representa un riesgo aumentado

dado que por una parte, los valores de riesgo obtenidos (OR: 8,37; IC 95% 1,86-37,64 y 2,41; IC 95% 1,04-5,56) son superiores a aquellos obtenidos en individuos no fumadores (OR: 0,81; IC 95% 0,21-3,17 y 1,16; IC 95% 0,48-2,79) y por otro lado, el valor de riesgo obtenido para la confluencia m2m2/tabaco es muy superior al del hábito tabáquico por sí solo, en la población total (OR: 2,54, Tabla 1). Por otra parte, la presencia del genotipo nulo de GSTM1 parece no modificar el riesgo, dado que el valor de OR observado (2,40) es similar al del tabaco por sí solo, más aún, la presencia del genotipo nulo parece ser protector, dado que se observa un OR mucho menor a la unidad (0,30).

#### DISCUSIÓN

Muchos artículos se han escrito acerca de las interacciones genéticas y genético-ambientales, de su relación con la susceptibilidad a diferentes tipos de cáncer<sup>41-45</sup>, y, en especial, sobre polimorfismos en genes de baja-penetrancia que codifican para determinadas vías metabólicas en el organismo<sup>11</sup>.

En este estudio, se analizaron en 73 pacientes y 263 controles, las variantes alélicas de CYP1A1, enzima que bioactiva hidrocarburos aromáticos como el benzo(a)pireno transformándolos en epóxidos y productos fenólicos mutagénicos y

**Tabla 2. Consumo de alcohol, genotipos de CYP1A1 y GSTM1 y riesgo de CaG**

	Alcohol	Casos (%)	Controles (%)	ORa	95% IC
<b>CYP1A1</b>					
m2m2	+	5 (6,8)	4 (1,5)	13,65	3,15-59,05
m2m2	-	3 (4,1)	22 (8,4)	0,62	0,14-2,20
m1m2	+	10 (13,7)	27 (10,3)	2,77	1,06-7,25
m1m2	-	17 (23,3)	57 (21,7)	1,39	0,68-3,39
m1m1	+	17 (23,3)	44 (16,7)	3,53	1,53-8,12
m1m1	-	21 (28,8)	109 (41,4)	1	
<b>GSTM1</b>					
nulo	+	8 (11,0)	17 (6,5)	3,36	1,23-9,16
nulo	-	5 (6,8)	39 (14,8)	0,62	0,17-1,41
presente	+	24 (32,9)	58 (22,0)	2,11	1,45-5,90
presente	-	36 (49,3)	149 (56,7)	1	

ORa: *Odds ratio*, ajustado por edad y sexo; IC: Intervalo de confianza.

**Tabla 3. Hábito tabáquico, genotipos de CYP1A1 y GSTM1 y riesgo de CaG**

	Fumar	Casos	Controles	ORa	IC 95%
<b>CYP1A1</b>					
m2m2	+	5 (6,8)	4 (1,5)	8,37	1,86-37,64
m2m2	-	3 (4,1)	22 (8,4)	0,81	0,21-3,17
m1m2	+	15 (20,5)	35 (13,3)	2,41	1,04-5,56
m1m2	-	12 (16,4)	49 (18,6)	1,16	0,48-2,79
m1m1	+	22 (30,1)	63 (24,0)	2,37	1,12-5,05
m1m1	-	16 (21,9)	90 (34,2)	1	
<b>GSTM1</b>					
nulo	+	11	23	2,40	1,00-5,78
nulo	-	2	33	0,30	0,06-1,36
presente	+	31	79	2,12	1,15-3,93
presente	-	29	128	1	

ORa: *Odds ratio* ajustado por edad y sexo; IC: Intervalo de confianza.

carcinogénicos; por consiguiente, una alta actividad enzimática puede predisponer a los pacientes al riesgo de cáncer por aumento de los compuestos carcinogénicos a nivel de los tejidos<sup>46</sup>. Por otro lado, se estudió la delección de GSTM1, una enzima perteneciente a la familia de las glutatión S-transferasas, las cuales catalizan la unión de glutatión con numerosos compuestos potencialmente genotóxicos, tales como radicales aromáticos y epóxidos.

Los resultados obtenidos muestran que los genotipos de CYP1A1 denominados de riesgo (m1m2 y m2m2), por sí solos no se encuentran asociados a cáncer gástrico, sin embargo, en individuos fumadores o bebedores, la asociación es muy clara, con valores de riesgo muy superiores a los obtenidos para cada uno de los factores individuales. Esto se debería a que para la manifestación del riesgo es necesario considerar el factor ambiental, dado que, si bien es cierto se ha sugerido que el alelo m2 de CYP1A1 sería responsable de una mayor actividad de la enzima<sup>44</sup>, se requiere la presencia del sustrato para su manifestación clínica, es decir, la presencia de hidrocarburos aromáticos policíclicos, los que son componentes importantes del humo del cigarrillo y, en general, de los procesos de combustión incompleta de materia orgánica<sup>19</sup>.

A pesar de que el alcohol no es sustrato de la enzima CYP1A1, se observó una asociación significativa, esto podría deberse a que, en general, los individuos fumadores son los mismos bebedores, por lo que existe una autocorrelación que no permite una disociación entre estos dos factores. Por otro lado, ha sido demostrado que el alcohol potencia la formación de aductos de benzo(a)pireno<sup>47</sup>, lo que en parte podría explicar la asociación observada.

Por otro lado, el genotipo nulo de GSTM1 no parece conferir un riesgo de presentar esta patología, dado que tanto solo como en combinación con el hábito tabáquico o alcohólico, los valores de riesgo obtenidos son menores a 1,0, aún más, para el genotipo nulo de la enzima en ausencia del tabaco o el alcohol los valores son aún más bajos, alcanzando para el genotipo el valor de OR: 0,30, lo que indica un potencial efecto protector de esta variante. Por otra parte, diferentes estudios en japoneses y chinos han informado que el genotipo nulo M1 de GST ha sido asociado con cáncer gástrico<sup>34,35,48</sup>. Shen y cols (2005), en un estudio realizado en individuos chinos, informaron similares hallazgos a los reportados en nuestro estudio. Ellos encontraron un riesgo aumentado de cáncer gástrico en aquellos individuos fumadores y portadores de las variantes genotípicas polimórficas<sup>28</sup>.

Estas inconsistencias en los hallazgos reportados podrían estar explicados por la diversidad étnica, diferentes tipos histológicos involucrados, y otro tipo de covariables ambientales, tales como la dieta y exposición a otros contaminantes ambientales, ocupacionales e infecciones asociadas a *H pylori*. También debe considerarse que la magnitud y dirección de las modificaciones observadas debieran ser definidas y complementadas en un estudio de mayor número de casos, ya que una de las principales restricciones, al momento de hacer estos estudios donde se evalúan interacciones, es el tamaño de la muestra<sup>49,50</sup>, esto permitiría, además, la incorporación de otros factores genéticos relevantes no evaluados en este estudio, como lo son variantes genéticas de

enzimas metabolizadoras del alcohol, antioncogénicas, enzimas de reparación del ADN.

En conclusión, nuestros resultados sugieren que en las interacciones genotípico-ambientales estudiadas, la presencia de las variantes genéticas de CYP1A1 tendrían un efecto modificador del riesgo de cáncer gástrico inducido por el hábito de fumar y el consumo de alcohol. Esta asociación es importante, si consideramos que en la población chilena el hábito de fumar y beber alcohol es muy prevalente. Según en sexto estudio de la Comisión Nacional de Control de Estupefacientes (CONACE), la prevalencia del consumo de alcohol en el periodo 1994 a 2004 ha aumentado desde 40% a 58% y el hábito de fumar se ha mantenido en 40%<sup>51</sup>.

#### REFERENCIAS

1. PARKIN DM, PISANI P, FERLAY J. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 1999; 49: 33-64.
2. CALVO A, PRUYAS M, NILSEN E, VERDUGO P. Pesquisa poblacional de cáncer gástrico en pacientes sintomáticos digestivos, período 1996-2000. *Rev Méd Chile* 2001; 129: 749-55.
3. NYREN O, ADAMI H. Stomach Cancer. In: Hans-Olov Adami DH, Dimitrios Trichopoulos, ed. *Cancer Epidemiology*, vol Oxford University Press, 2002.
4. CORREA P. A human model of gastric carcinogenesis. *Cancer Research* 1988; 48: 3554-60.
5. TORRES MM, ACOSTA CP, SICARD DM, GROOT DE RESTREPO H. [Genetic susceptibility and risk of gastric cancer in a human population of Cauca, Colombia]. *Biomedica* 2004; 24: 153-62.
6. VALDIVIA G, BASTÍAS G. Epidemiología del cáncer en Chile. *Boletín Esc. de Medicina, P. Universidad Católica de Chile* 1994; 23: 45-9.
7. SZOT J. [Epidemiological analysis of mortality caused by solid tumors in the Metropolitan Region, Chile, 1999]. *Rev Méd Chile* 2003; 131: 641-9.
8. MEDINA E, KAEMPFER AM. [Cancer mortality in Chile: epidemiological considerations]. *Rev Méd Chile* 2001; 129: 1195-202.
9. AARNIO M, SALOVAARA R, AALTONEN LA, MECKLIN JP, JARVINEN HJ. Features of gastric cancer in hereditary non-polyposis colorectal cancer syndrome. *Int J Cancer* 1997; 74: 551-5.
10. VARLEY JM, MCGOWN G, THORNCROFT M, TRICKER KJ, TEARE MD, SANTIBÁÑEZ-KOREF MF ET AL. An extended Li-Fraumeni kindred with gastric carcinoma and a codon 175 mutation in TP53. *J Med Genet* 1995; 32: 942-5.
11. LICHTENSTEIN P, HOLM NV, VERKASALO PK, ILIADOU A, KAPRIO J, KOSKENVUO M ET AL. Environmental and heritable factors in the causation of cancer—analyses of cohorts of twins from Sweden, Denmark, and Finland. *N Engl J Med* 2000; 343: 78-85.
12. AHLBOM A, LICHTENSTEIN P, MALMSTROM H, FEYCHTING M, HEMMINKI K, PEDERSEN NL. Cancer in twins: genetic and nongenetic familial risk factors. *J Natl Cancer Inst* 1997; 89: 287-93.
13. LISSOWSKA J, GROVES FD, SOBIN LH, FRAUMENI JF JR, NASIEROWSKA-GUTTMEYER A, RADZISZEWSKI J ET AL. Family history and risk of stomach cancer in Warsaw, Poland. *Eur J Cancer Prev* 1999; 8: 223-7.

14. YOU WC, ZHANG L, GAIL MH, CHANG YS, LIU WD, MA JL ET AL. Gastric dysplasia and gastric cancer: *Helicobacter pylori*, serum vitamin C, and other risk factors. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92: 1607-12.
15. EL-OMAR EM, CARRINGTON M, CHOW WH, MCCOLL KE, BREAM JH, YOUNG HA ET AL. Interleukin-1 polymorphisms associated with increased risk of gastric cancer. *Nature* 2000; 404: 398-402.
16. EL-OMAR EM, OIEN K, MURRAY LS, EL-NUJUMI A, WIRZ A, GILLEN D ET AL. Increased prevalence of precancerous changes in relatives of gastric cancer patients: critical role of *H pylori*. *Gastroenterology* 2000; 118: 22-30.
17. AZUMA T, ITO S, SATO F, YAMAZAKI Y, MIYAJI H, ITO Y ET AL. The role of the HLA-DQA1 gene in resistance to atrophic gastritis and gastric adenocarcinoma induced by *Helicobacter pylori* infection. *Cancer* 1998; 82: 1013-8.
18. MAGNUSSON PKE, ENROTH H, ERIKSSON I, HELD M, NYREN O, ENGSTRAND L ET AL. Gastric cancer and human leukocyte antigen: distinct DQ and DR alleles are associated with development of gastric cancer and infection by *Helicobacter pylori*. *Cancer Res* 2001; 61: 2684-9.
19. QUINONES L, GIL L. Induction of rat hepatic P4501A1 by organic extracts from airborne particulate matter in Santiago, Chile. *Xenobiotica* 1995; 25: 81-9.
20. MURATA M, SHIRAISHI T, FUKUTOME K, WATANABE M, NAGAO M, KUBOTA Y ET AL. Cytochrome P4501A1 and glutathione S-transferase M1 genotypes as risk factors for prostate cancer in Japan. *Jpn J Clin Oncol* 1998; 28: 657-60.
21. REBBECK TR, WALKER AH, JAFFE JM, WHITE DL, WEIN AJ, MALKOWICZ SB. Glutathione S-transferase-mu (GSTM1) and -theta (GSTT1) genotypes in the etiology of prostate cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1999; 8 (4Pt 1): 283-7.
22. WADELIUS C. [Revolutionary progress is to be expected when health care will be marked by genetics]. *Lakartidningen* 1999; 96: 4524-6.
23. WADELIUS M, AUTRUP JL, STUBBINS MJ, ANDERSSON SO, JOHANSSON JE, WADELIUS C ET AL. Polymorphisms in NAT2, CYP2D6, CYP2C19 and GSTP1 and their association with prostate cancer. *Pharmacogenetics* 1999; 9: 333-40.
24. AUTRUP JL, THOMASSEN LH, OLSEN JH, WOLF H, AUTRUP H. Glutathione S-transferases as risk factors in prostate cancer. *Eur J Cancer Prev* 1999; 8: 525-32.
25. GSUR A, HAIDINGER G, HINTEREGGER S, BERNHOFER G, SCHATZL G, MADERSBACHER S ET AL. Polymorphisms of glutathione-S-transferase genes (GSTP1, GSTM1 and GSTT1) and prostate-cancer risk. *Int J Cancer* 2001; 95: 152-5.
26. SAKAKURA C, HAGIWARA A, NAKANISHI M, SHIMOMURA K, TAKAGI T, YASUOKA R ET AL. Differential gene expression profiles of gastric cancer cells established from primary tumour and malignant ascites. *Br J Cancer* 2002; 87: 1153-61.
27. ZHANG KL, MA JX, CHEN XY, SUN Y, KONG QY, LIU J ET AL. Frequent CYP1A1 expression in gastric cancers and their related lesions. *Oncol Rep* 2004; 12: 1335-40.
28. SHEN J, WANG RT, XU YC, WANG LW, WANG XR. Interaction models of CYP1A1, GSTM1 polymorphisms and tobacco smoking in intestinal gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 6056-60.
29. SMITH GB, HARPER PA, WONG JM, LAM MS, REID KR, PETSİKAS D ET AL. Human lung microsomal cytochrome P4501A1 (CYP1A1) activities: impact of smoking status and CYP1A1, aryl hydrocarbon receptor, and glutathione S-transferase M1 genetic polymorphisms. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001; 10: 839-53.
30. BARNES SL, SINGLETARY KW, FREY R. Ethanol and acetaldehyde enhance benzo[a]pyrene-DNA adduct formation in human mammary epithelial cells. *Carcinogenesis* 2000; 21: 2123-8.
31. MELIKIAN AA, GOLDIN BF, PRAHALAD AK, HECHT SS. Modulation of benzo[a]pyrene-DNA adducts in hamster cheek pouch by chronic ethanol consumption. *Chem Res Toxicol* 1990; 3: 139-43.
32. AUTRUP JL, HANSEN C, AUTRUP H. Detection of tobacco smoke carcinogen-DNA adducts in cultured rat buccal mucosa cells following exposure to ethanol and total cigarette smoke condensate or chewing tobacco. *Chem Biol Interact* 1992; 85: 141-50.
33. SUZUKI S, MUROIISHI Y, NAKANISHI I, ODA Y. Relationship between genetic polymorphisms of drug-metabolizing enzymes (CYP1A1, CYP2E1, GSTM1, and NAT2), drinking habits, histological subtypes, and p53 gene point mutations in Japanese patients with gastric cancer. *J Gastroenterol* 2004; 39: 220-30.
34. SETIAWAN VW, ZHANG ZF, YU GP, LI YL, LU ML, TSAI CJ ET AL. GSTT1 and GSTM1 null genotypes and the risk of gastric cancer: a case-control study in a Chinese population. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2000; 9: 73-80.
35. KATOH T, NAGATA N, KURODA Y, ITOH H, KAWAHARA A, KUROKI N ET AL. Glutathione S-transferase M1



- (GSTM1) and T1 (GSTT1) genetic polymorphism and susceptibility to gastric and colorectal adenocarcinoma. *Carcinogenesis* 1996; 17: 1855-9.
36. QUIÑONES L, BERTHOU F, VARELA N, SIMON B, GIL L, LUCAS D. Ethnic susceptibility to lung cancer: differences in CYP2E1, CYP1A1 and GSTM1 genetic polymorphisms between French Caucasian and Chilean populations. *Cancer Lett* 1999; 141: 167-71.
  37. KAWAJIRI K, NAKACHI K, IMAI K, YOSHII A, SHINODA N, WATANABE J. Identification of genetically high risk individuals to lung cancer by DNA polymorphisms of the cytochrome P450IA1 gene. *FEBS Lett* 1990; 263: 131-3.
  38. AMBROSONE CB, FREUDENHEIM JL, GRAHAM S, MARSHALL JR, VENA JE, BRASURE JR ET AL. Cytochrome P450IA1 and glutathione S-transferase (M1) genetic polymorphisms and postmenopausal breast cancer risk. *Cancer Res* 1995; 55: 3483-5.
  39. BOTTO LD, KHOURY MJ. Commentary: facing the challenge of gene-environment interaction: the two-by-four table and beyond. *Am J Epidemiol* 2001; 153: 1016-20.
  40. STATA. STATA Corporation. Intercooled STATA for Windows. In 2000.
  41. QUIÑONES L, LUCAS D, GODOY J, CÁCERES D, BERTHOU F, VARELA N ET AL. CYP1A1, CYP2E1 and GSTM1 genetic polymorphisms. The effect of single and combined genotypes on lung cancer susceptibility in Chilean people. *Cancer Lett* 2001; 174: 35-44.
  42. ACEVEDO C, OPAZO JL, HUIDOBRO C, CABEZAS J, ITURRIETA J, QUIÑONES SEPÚLVEDA L. Positive correlation between single or combined genotypes of CYP1A1 and GSTM1 in relation to prostate cancer in Chilean people. *Prostate* 2003; 57: 111-7.
  43. CÁCERES D, ITURRIETA J, ACEVEDO C, HUIDOBRO C, VARELA N, ESCALA M, QUIÑONES L. [Gene-gene and gene-environment interactions as modifier factors of prostatic cancer risk: «a case-only» design study]. *Rev Méd Chile* 2004; 132: 961-70.
  44. QUIÑONES L, LEE K, ESCALA M, GARCÍA K, GODOY L, CASTRO A ET AL. Farmacogenética: El estudio de las variaciones genéticamente determinadas en la susceptibilidad diferenciada a cáncer y otras patologías. *Rev Méd Chile* 2006; 134: 499-515.
  45. QUIÑONES L, IRARRÁZABAL C, ROJAS C, ORELLANA C ET AL. Joint effect among p53, CYP1A1, GSTM1 polymorphisms combinations and smoking on prostate cancer risk: an exploratory genotype-environment interaction study. *Asian Journal of Andrology* 2006; 8(3): 349-55.
  46. SHIMADA T, YUN CH, YAMAZAKI H, GAUTIER JC, BEAUNE PH, GUENGERICH FP. Characterization of human lung microsomal cytochrome P-450 1A1 and its role in the oxidation of chemical carcinogens. *Mol Pharmacol* 1992; 41: 856-64.
  47. RUNDLE A, TANG D, MOONEY L, GRUMET S, PERERA F. The interaction between alcohol consumption and GSTM1 genotype on polycyclic aromatic hydrocarbon-DNA adduct levels in breast tissue. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2003; 12: 911-4.
  48. SETIAWAN VW, ZHANG ZF, YU GP, LU QY, LI YL, LU ML ET AL. GSTP1 polymorphisms and gastric cancer in a high-risk Chinese population. *Cancer Causes Control* 2001; 12: 673-81.
  49. GAUDERMAN WJ. Sample size requirements for association studies of gene-gene interaction. *Am J Epidemiol* 2002; 155: 478-84.
  50. BRENNAN P. Gene-environment interaction and aetiology of cancer: what does it mean and how can we measure it? *Carcinogenesis* 2002; 23: 381-7.
  51. CONACE. Sexto Estudio Nacional de Drogas en Población General de Chile. In Estudios. ed. Comisión Nacional de Control de Estupefacientes, [http://www.conace.cl/inicio/pdf/Res\\_Ejecutivo\\_Ecolares\\_2005\\_julio\\_10\\_06.pdf](http://www.conace.cl/inicio/pdf/Res_Ejecutivo_Ecolares_2005_julio_10_06.pdf); 2004.

#### Agradecimientos

Los autores desean agradecer por una parte, la colaboración del Dr. Jorge Soto Labbé, por su revisión crítica del manuscrito y, por otra parte, a los pacientes y controles incorporados en este estudio, que de manera muy altruista contribuyeron con sus muestras y sus antecedentes, como una forma de aportar a la investigación en esta área.