

Validación del gen Reprimo metilado como biomarcador de riesgo de cáncer gástrico

PABLO SANTORO VILLAVICENCIO*

GRUADO DE MAGÍSTER EN BIOESTADÍSTICA, ESCUELA DE SALUD PÚBLICA
FACULTAD DE MEDICINA, UNIVERSIDAD DE CHILE

La mucosa del estómago es susceptible a generar lesiones que, si no se tratan adecuadamente, pueden progresar hasta desencadenar cáncer gástrico (CG) (Soroorkia et al., 2024). A través de la endoscopia digestiva alta es posible determinar el grado de atrofia que existe en el estómago y evaluar si estas lesiones corresponden a un bajo o alto riesgo de progresar a CG (Conti et al., 2023; Rugge et al., 2018). Es preciso señalar que hoy en día no existe un procedimiento adecuado para diagnosticar de forma no invasiva el CG, de igual forma, no existe un método para evaluar el riesgo de desarrollar esta enfermedad. En Chile esto cobra especial relevancia donde el CG es la segunda causa de muerte por cáncer y cuarto en incidencia (GLOBOCAN, 2020). Una alternativa plausible y encaminada a determinar el riesgo de desarrollar esta patología son los biomarcadores, elementos medibles que entregan información biológica relevante (Bodaghi et al., 2023; Califf, 2018). Reprimo (RPRM) es un gen supresor de tumores ampliamente estudiado en CG (Saavedra et al., 2015). Este gen presenta una alta frecuencia de metilación de su región promotora en sujetos con CG y, además, esta característica es detectable en sangre periférica (Amigo et al., 2018; Bernal et al., 2008; Maturana et al., 2025). Por lo tanto, la metilación de RPRM puede ser utilizada como un biomarcador no invasivo para detectar CG. Sin embargo, no está del todo claro cuál es el perfil de metilación de RPRM en la preneoplasia, momento en que es posible evaluar el riesgo de desarrollar esta patología (Schneider et al., 2010).

Con el fin de estudiar la capacidad de RPRM metilado para clasificar lesiones de alto riesgo (LAR) de progresar a CG, se analizó una cohorte chilena ($n = 267$) proveniente de dos localidades, Molina (Región del Maule) y Nueva Imperial (Región de la Araucanía). Los datos clínicos incluyen diagnóstico de la mucosa gástrica de acuerdo con el sistema de clasificación del grado y extensión de la atrofia, OLGA, siendo OLGA III-IV clasificados como LAR y OLGA 0-I-II como lesiones de bajo riesgo (LBR) de progresar a CG. Por otro lado, la metilación de RPRM (biomarcador) se presenta como cantidad de copias de ADN metilado por cada mL de sangre (copias/mL), correspondiente a una cuantificación de la metilación (técnica MethyLight) (Eads et al.,

2000). Datos adicionales de la cohorte se presentan en la Tabla 1.

La naturaleza binaria de la lesión gástrica (LAR/LBR) permitió analizar la capacidad de clasificación de RPRM metilado a través de modelos de regresión logística (RL) (Elkhwag et al., 2024) y controlando por el sexo, la edad, el origen geográfico y la presencia de *Helicobacter pylori* (Hp), el mayor agente etiológico del CG (Kim & Wang, 2021). Sin embargo, dada la complejidad de RPRM metilado (asimetría positiva en su distribución y alta frecuencia de valores 0) el supuesto de linealidad con el logit de la variable respuesta no se cumplió. En consecuencia, se decidió explorar relaciones no lineales que pudiesen existir entre RPRM y las lesiones gástricas. Para dicho fin se ajustaron modelos de RL con *splines* cúbicos naturales.

Tabla 1: Resumen descriptivo de la cohorte estudiada.

Variable	Categorías	Estadística
		Frecuencia (%)
Sexo	Femenino	162 (60,7)
	Masculino	104 (39,0)
	Sin información	1 (< 1,0)
Lesión	Bajo riesgo (LBR)	243 (91,0)
	Alto riesgo (LAR)	24 (9,0)
Hp	Positivo	113 (51,1)
	Negativo	108 (48,9)
	Sin información	46 (17,2)
Origen	Molina	104 (39,0)
	Nueva Imperial	163 (61,0)
Edad		Media (DE)
	—	57,9 (9,9)
RPRM		Mediana (RI)
	—	0 (39,6)

Hp: *Helicobacter pylori*, RPRM: gen Reprimo.

DE: desviación estándar, RI: rango intercuartil.

Los *splines* son funciones que permiten ajustar los datos con segmentos delimitados por nodos. Cada nodo funciona como una bisagra, capturando cambios en la dirección de la curva de acuerdo con la naturaleza del predictor continuo. Los *splines* cúbicos agregan

*Bioquímico, Grupo de investigación de cáncer gástrico, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile p.santoro.v@gmail.com.

funciones polinómicas de tercer grado al modelo para construir curvas ascendentes o descendentes y, de esta manera, capturar relaciones complejas entre el predictor y el *outcome* (Gauthier et al., 2020; Harrel, 2015). Para el ajuste de RPRM bajo este modelo, se aplicaron 4 *splines* junto con las covariables. El modelo teórico simplificado es el siguiente:

$$\begin{aligned} \text{logit}(LAR) = & \beta_0 + \beta_1 f_1(RPRM) + \beta_2 f_2(RPRM) \\ & + \beta_3 f_3(RPRM) + \beta_4 f_4(RPRM) \\ & + \beta_5 \text{origen} + \beta_6 \text{sexo} + \beta_7 \text{edad} + \beta_8 Hp, \end{aligned}$$

donde β_0 corresponde al intercepto del modelo de RL, β_i a los coeficientes de cada predictor y $f_i(RPRM)$ representa una transformación no lineal de RPRM metilado (*splines*).

El ajuste de este modelo indica que RPRM tiene un efecto significativo en el segmento del *spline* $RPRM_{f_1}$ y este efecto es independiente de las características demográficas y el perfil de Hp del sujeto (Tabla 2). La Figura 1 muestra cómo cambian los niveles de RPRM en relación con el riesgo de tener lesiones gástricas avanzadas. El eje vertical del gráfico representa la fuerza con la que el biomarcador influye en el riesgo; cuanto más sube la curva sobre el valor cero, mayor es la evidencia de presencia de LAR. Como se observa, este impacto aumenta significativamente cuando los niveles del gen en la sangre están entre 10 y 1000 copias/mL (1 – 3 RPRMlog). Este aumento alcanza su punto má-

ximo cerca de las 100 copias/mL, lo que indica que en este rango específico el biomarcador es más sensible para identificar a las personas con mayor riesgo de desarrollar CG. Posteriormente, se llevaron a cabo análisis de rendimiento de los modelos ajustados a través de curvas ROC, donde el modelo completo con *splines* (todas las covariables) obtuvo un rendimiento por sobre el 70% ($AUC = 0,72$). En contraste, el modelo de RL estándar arrojó un AUC de 0,65. Estas diferencias en los rendimientos, responde al efecto significativo de $RPRM_{f_1}$ en el modelo con *splines*.

Tabla 2: Ajuste del modelo de RL con *splines* cúbicos naturales.

Predictor	Coefficiente	EE	IC 95 %
$RPRM_{f_1}$	3,9479	1,7979	0,4168; 7,5816
$RPRM_{f_2}$	-0,1280	1,8838	-3,5722; 4,6376
$RPRM_{f_3}$	-4,5945	5,3640	-19,3721; 3,3727
$RPRM_{f_4}$	6,0101	3,8010	-0,5682; 15,702
Origen [†]	0,4541	0,6685	-0,8265; 1,8230
Sexo ^{††}	-0,4840	0,5289	-1,5435; 0,5603
Edad	0,0447	0,0277	-0,0101; 0,0998
Hp (+)	0,4580	0,5323	-0,5725; 1,5469

[†]Ref.: Molina, ^{††}Ref.: Masculino.

$RPRM_{f_1}$ a $RPRM_{f_4}$: funciones *splines* aplicadas.

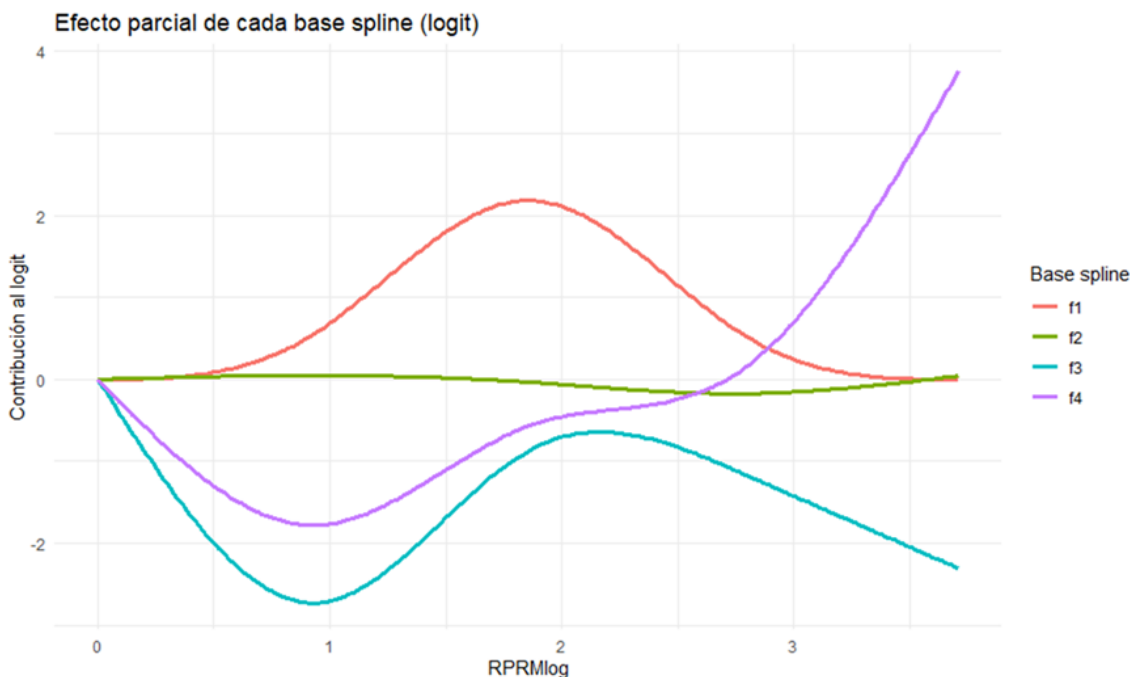


Figura 1. Contribución al logit de LAR de cada *spline* en el ajuste del modelo RL con *splines* naturales. RPRMlog: transformación logarítmica (en base 10) de RPRM metilado.

En definitiva, el modelo con *splines* cúbicos evidenció que existen relaciones no lineales entre RPRM metilado en sangre y las lesiones gástricas y esto permitió establecer que este predictor es capaz de clasificar correctamente a sujetos con LAR cuando estos exhiben entre 10 y 1000 copias/mL. Además, la capacidad de clasificación de RPRM es independiente del sexo, la edad, el perfil de Hp y el origen geográfico del sujeto. Esta AFE corresponde a un primer estudio del potencial de RPRM metilado como biomarcador de diagnóstico de lesiones gástricas en sangre periférica, un método no invasivo y accesible para indagar sobre el riesgo de desarrollar CG en un contexto de población chilena.

Información adicional

Director: Prof. Rodrigo Villegas Ríos. Programa de Bioestadística, Escuela de Salud Pública, Universidad de Chile.

Fecha de la graduación: 6 de enero de 2026.

Referencias

- Amigo, J. D., Opazo, J. C., Jorquera, R., Wichmann, I. A., Garcia-Bloj, B. A., Alarcon, M. A., Owen, G. I., & Corvalán, A. H. (2018). The Reprimo Gene Family: A Novel Gene Lineage in Gastric Cancer with Tumor Suppressive Properties. *International Journal of Molecular Sciences*, *19*(7), 1862. <https://doi.org/10.3390/ijms19071862>
- Bernal, C., Aguayo, F., Villarroel, C., Vargas, M., Díaz, I., Ossandon, F. J., Santibáñez, E., Palma, M., Aravena, E., Barrientos, C., & Corvalan, A. H. (2008). Reprimo as a potential biomarker for early detection in gastric cancer. *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, *14*(19), 6264-6269. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-07-4522>
- Bodaghi, A., Fattahi, N., & Ramazani, A. (2023). Biomarkers: Promising and valuable tools towards diagnosis, prognosis and treatment of Covid-19 and other diseases. *Heliyon*, *9*(2), e13323. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e13323>
- Califf, R. M. (2018). Biomarker definitions and their applications. *Experimental Biology and Medicine (Maywood)*, *243*(3), 213-221. <https://doi.org/10.1177/1535370217750088>
- Conti, C. B., Agnesi, S., Scaravaglio, M., Masseria, P., Dinelli, M. E., Oldani, M., & Uggeri, F. (2023). Early Gastric Cancer: Update on Prevention, Diagnosis and Treatment. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *20*(3), 2149. <https://doi.org/10.3390/ijerph20032149>
- Eads, C. A., Danenberg, K. D., Kawakami, K., Saltz, L. B., Blake, C., Shibata, D., Danenberg, P. V., & Laird, P. W. (2000). MethyLight: A high-throughput assay to measure DNA methylation. *Nucleic Acids Research*, *28*(8), E32. <http://doi.org/10.1093/nar/28.8.e32>
- Elkawahy, D. M. A. S., Kiriacos, C. J., & Mansour, M. (2024). Logistic regression and other statistical tools in diagnostic biomarker studies. *Clinical & Translational Oncology*, *26*, 2172-2180. <https://doi.org/10.1007/s12094-024-03413-8>
- Gauthier, J., Wu, Q. V., & Gooley, T. A. (2020). Cubic splines to model relationships between continuous variables and outcomes: A guide for clinicians. *Bone Marrow Transplantation*, *55*, 675-680. <https://doi.org/10.1038/s41409-019-0679-x>
- GLOBOCAN. (2020). GLOBOCAN 2020: Estimated cancer incidence, mortality and prevalence worldwide in 2020. World Health Organization International Agency for Research on Cancer (IARC). <https://gco.iarc.fr/>
- Harrel, F. (2015). *Regression Modeling Strategies* (2nd Ed.). Springer.
- Kim, J., & Wang, T. C. (2021). Helicobacter pylori and Gastric Cancer. *Gastrointestinal Endoscopy Clinics of North America*, *31*(3), 451-465. <https://doi.org/10.1016/j.giec.2021.03.003>
- Maturana, M. J., Padilla, O., Santoro, P. M., Alarcón, M. A., Olivares, W., Blanco, A., Armisen, R., Garrido, M., Aravena, E., Barrientos, C., Calvo-Belmar, A., & Corvalán, A. H. (2025). Methylated Reprimo Cell-Free DNA as a Non-Invasive Biomarker for Gastric Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, *26*(7), 3333. <https://doi.org/10.3390/ijms26073333>
- Rugge, M., Genta, R. M., Fassan, M., Valentini, E., Coati, I., Guzzinati, S., Savarino, E., Zorzi, M., Farinati, F., & Malfertheiner, P. (2018). OLGA Gastritis Staging for the Prediction of Gastric Cancer Risk: A Long-term Follow-up Study of 7436 Patients. *The American Journal of Gastroenterology*, *113*(11), 1621-1628. <https://doi.org/10.1038/s41395-018-0353-8>
- Saavedra, K., Valbuena, J., Olivares, W., Marchant, M. J., Rodríguez, A., Torres-Estay, V., Carrasco-Avino, G., Guzmán, L., Aguayo, F., Roa, J. C., & Corvalán, A. H. (2015). Loss of Expression of Reprimo, a p53-induced Cell Cycle Arrest Gene, Correlates with Invasive Stage of Tumor Progression and p73 Expression in Gastric Cancer. *PloS One*, *10*(5), e0125834. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0125834>

-
- Schneider, B. G., Peng, D.-F., Camargo, M. C., Piazuelo, M. B., Sicinski, L. A., Mera, R., Romero-Gallo, J., Delgado, A. G., Bravo, L. E., Wilson, K. T., Peek, R. M. J., Correa, P., & El-Rifai, W. (2010). Promoter DNA hypermethylation in gastric biopsies from subjects at high and low risk for gastric cancer. *International Journal of Cancer*, 127(11), 2588-2597. <https://doi.org/10.1002/ijc.25274>
- Soroorkia, S., Kazeminia, M., Qaderi, K., Ziapour, A., Hodhodi, T., & Javanbakht, Z. (2024). Global prevalence of gastric intestinal metaplasia: A systematic review and meta-analysis. *Systematic Reviews*, 13(247). <https://doi.org/10.1186/s13643-024-02633-x>