



UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS
ESCUELA DE ESTUDIOS DE POSTGRADO
DOCTORADO EN CIENCIAS BIOMÉDICAS

TESIS DOCTORAL

“Análisis del perfil de citocinas Th1, Th2, Th17 y otras citocinas pro inflamatorias (IL-1 β , IL-6 y TNF α) en el plasma de pacientes con cáncer gástrico”

PRESENTA:

MSc. Carmen Villagrán Blanco de Tercero

Director de Tesis: Dr. José Francisco Muñoz -Valle

Universidad de Guadalajara, México

Tutor: Dra. Elisa Hernández de Rodas

Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Médicas

Co tutor: Gabino Rafael Fernández Botrán PhD.

Universidad de Louisville, USA

Guatemala, julio 2021



ESCUELA DE
ESTUDIOS DE
POSTGRADO

Facultad de Ciencias Médicas

Universidad de San Carlos de Guatemala

DCB-OIP-002-2021

ORDEN DE IMPRESIÓN DE TESIS DOCTORAL

Nombre del Doctorando: CARMEN IRENE VILLAGRAN BLANCO DE TERCERO

Registro Académico No.: 1003379,

No. de CUI: 1765 43791 0101

Título de la Tesis:

“ANÁLISIS DEL PERFIL DE CITOCINAS TH1, TH2, TH17 Y OTRAS CITOCINAS PROINFLAMATORIAS (IL-1B, IL-6 Y TNFA) EN EL PLASMA DE PACIENTES CON CÁNCER GÁSTRICO”

Nombre de la Tutora: Dra. Elisa del Carmen Hernandez López de Rodas

Nombre del Tutor: Dr. José Francisco Muñoz Valle

El Director de la Escuela de Estudios de Postgrados, considerando que ante mí se presentan los siguientes documentos: el Acta de Examen de Defensa de Tesis donde consta que el sustentante ha sido aprobado al defender su tesis antes titulada y el dictamen de la Coordinación Académica donde se indica que se ha cumplido con los requisitos necesarios para impresión de tesis como exige el programa de Doctorado en Ciencias Biomédicas.

Por lo tanto, se **AUTORIZA LA IMPRESIÓN** del documento final, con las características que se establecen en los lineamientos para la presentación de la tesis del Doctorado en Ciencias Biomédicas.

Guatemala, 28 de julio de 2021

JULIO 28, 2021

Dr. Rigoberto Velásquez Paz MSc.

Director

Escuela de Estudios de Postgrado

Cc. Archivo

2ª. Avenida 12-40, Zona 1, Guatemala, Guatemala



Facultad de Ciencias Médicas Universidad de San Carlos de Guatemala

ACTA No.3/2021

EXAMEN DE DEFENSA DE TESIS DOCTORAL DOCTORADO EN CIENCIAS BIOMÉDICAS ESCUELA DE ESTUDIOS DE POSTGRADO FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS

En la Ciudad de Guatemala, a los 9 días, del mes de julio del año dos mil veintiuno, siendo las 10:00 horas, reunidos en el Aula Digital del Doctorado en Ciencias Biomédicas, los infrascritos miembros de la terna examinadora que practicaron el **EXAMEN GENERAL PRIVADO DE TESIS DOCTORAL**, a la estudiante:

CARMEN IRENE VILLAGRAN BLANCO DE TERCERO

Quien contestó satisfactoriamente todas las preguntas que le fueron formuladas sobre su tesis que se titula.

"ANÁLISIS DEL PERFIL DE CITOCINAS TH1, TH2, TH17 Y OTRAS CITOCINAS PRO INFLAMATORIAS (IL-1B, IL-6 Y TNFA) EN EL PLASMA DE PACIENTES CON CÁNCER GÁSTRICO"

Los Tutores que dirigieron la tesis fueron: Dra. Elisa del Carmen Hernández López de Rodas, de la Universidad de San Carlos de Guatemala, Dr. José Francisco Muñoz Valle, de la Universidad de Guadalajara, México. Gabino Rafael Fernández Botrán, Universidad de Louisville, USA.

Considerando las proposiciones presentadas en la misma, hemos **APROBADO** por **UNANIMIDAD** de votos con las notas de: **AAA**

Acto continuo la Dra. Elisa del Carmen Hernández López de Rodas, Coordinadora y en nombre de la **UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA** y de la **FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS** y **ESCUELA DE ESTUDIOS DE POSTGRADO**, le informa al estudiante el resultado del examen, elabora la presente ACTA y envía la misma a la Dirección de la Escuela de Estudios de Postgrado para efectos correspondientes. En fe de lo cual firmamos la presente ACTA en el mismo lugar y fecha arriba indicados.

"ID Y ENSEÑADA TODOS"

(f)

Dra. Elisa del Carmen Hernández López de Rodas
Coordinadora del Examen

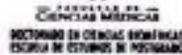


(f)

Dra. María Carlota Monroy Escobar
Miembro de la Terna examinadora

(f)

Dr. José María Gramajo Garmendez
Miembro de la Terna examinadora



(f)

Dr. Sergio Alejandro Melgar Valladares
Miembro de la Terna examinadora

Vo.Bo. (f)

Dr. Rigoberto Velásquez Paz
Director de la Escuela de Estudios de Postgrado



Facultad de Ciencias Médicas
Universidad de San Carlos de Guatemala



Dra. Elisa del Carmen Hernandez López de Rodas, Profesora titular de la Facultad de Ciencias Medicas de la Universidad de San Carlos de Guatemala

CERTIFICA

Que Carmen Irene Villagrán Blanco de Tercero ha realizado bajo mi dirección el trabajo de Tesis doctoral

“Análisis del perfil de citocinas Th1, Th2, Th17 y otras citocinas pro inflamatorias (IL-1 β , IL-6 y TNF α) en el plasma de pacientes con cáncer gástrico”

que a mi juicio reúne las condiciones para optar al Grado de Doctor.

Para que así conste, firmo el presente certificado el día 1 de marzo del año 2021.

Dra. Elisa del Carmen Hernández López
Colegiado No. 9,151
Médica Postgrado

Dra. Elisa del Carmen Hernández López
Profesora Titular VII



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS DE LA SALUD
RECTORÍA

REC/107/2021

**Doctorado en Ciencias Biomédicas de la
Universidad de San Carlos de Guatemala
Presente**

Por medio de la presente, me permito saludarlos y al mismo tiempo informarle que el alumno **MSc. Carmen Irene Villagrán Blanco de Tercero** del *Doctorado en Ciencias Biomédicas de la Universidad de San Carlos de Guatemala*, ha culminado con la realización de su Tesis de Doctorado:

"Análisis del perfil de citocinas Th1, Th2, Th17 y otras citocinas pro inflamatorias (IL-1 β , IL-6 y TNF α) en el plasma de pacientes con cáncer gástrico"

Asimismo, les informo que la Tesis de Doctorado ha sido revisada y reúne la originalidad y calidad suficiente para ser sometida a consideración del jurado de Examen de Grado.

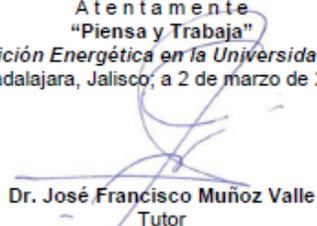
Sin otro particular por el momento, agradezco su atención a la presente, esperando una respuesta favorable de su parte.

Atentamente

"Piensa y Trabaja"

"Año de la Transición Energética en la Universidad de Guadalajara"

Guadalajara, Jalisco, a 2 de marzo de 2021


Dr. José Francisco Muñoz Valle
Tutor


RECTORÍA
Centro Universitario
de Ciencias de la Salud
Rector del Centro Universitario de Ciencias de la Salud
Miembro de la Academia Mexicana de Ciencias
Miembro del Sistema Nacional de Investigadores Nivel III
National Representative of International Federation of Clinical Chemistry

UNIVERSITY OF
LOUISVILLE
SCHOOL OF MEDICINE

Department of Pathology and Laboratory Medicine

22 de Abril de 2021

RE: Certificación de Trabajo de Tesis de la Dr. Carmen Irene Villagrán Blanco de Tercero

A las autoridades correspondientes:

Yo, Gabino Rafael Fernández Botrán, Ph.D., Profesor Asociado del Departamento de Patología y Medicina de Laboratorio de la Universidad de Louisville, Louisville, Kentucky, E.E.U.U.

CERTIFICO

Que la Carmen Irene Villagrán Blanco de Tercero ha realizado bajo mi dirección el trabajo de tesis doctoral

"Análisis del perfil de citocinas Th1, Th2, Th17 y otras citocinas pro inflamatorias (IL-1 β , IL-6 y TNF α) en el plasma de pacientes con cáncer gástrico"

El cual, a mi juicio, reúne las condiciones para optar al Grado de Doctor.

Para que así conste, firmo el presente certificado el día 22 de Abril del año 2021.



G. Rafael Fernandez-Botran, Ph.D.
Associate Professor
Department of Pathology & Laboratory Medicine
School of Medicine
University of Louisville
Louisville, KY 40292

Agradecimientos:

A Dios por estar conmigo siempre

A mi familia por su paciencia y apoyo, especialmente a mis hijos: Licda. Ximena Tercero Villagrán, Carlos Rafael Tercero Villagrán PhD y MSc Alejandra Michelle Tercero Villagrán

A: Universidad de San Carlos de Guatemala

A: Universidad de Guadalajara

A: los profesores del Doctorado y profesionales allegados al mismo, especialmente a:

Dra. Elisa Hernandez de Rodas

Dr. José Francisco Muñoz-Valle

Dra. Carlota Monroy Escobar,

Dr. Oscar Manuel Cóbar Pinto,

Dr. Sergio Melgar Valladares

Lic. Armando Cáceres Estrada

ÍNDICE

Lista de símbolos, abreviaturas y siglas	10
Índice de figuras	12
Índice de cuadros	12
I. Resumen	13
II. Marco Teórico	
II.1 Introducción	15
II.2 Epidemiología del cáncer gástrico	17
II.3 Diagnóstico y Clasificación del cáncer gástrico	17
II.4 Infección por <i>H. pylori</i>	20
II.5 Citocinas en infección por <i>H. pylori</i> y Cáncer Gástrico	22
II.6 Niveles séricos de citocinas y detección de Cáncer Gástrico	23
II.7 Planteamiento del problema	27
III. Marco Metodológico	29
III.1 Sede del estudio	29
III.2 Consideraciones éticas	29
III.3 Hipótesis	32
III.4 Objetivos	30
III.5 Material y Métodos	33
III.6 Análisis estadístico	35
III.7 Procedimientos	36
IV. Resultados	38
IV.1 Comparación de niveles de citocinas	40
IV.2 Asociación entre niveles de citocinas y CG	40
IV.3 Niveles de citocinas y tipo de CG (Lauren)	41
IV.4 Estadio del tumor y niveles de citocinas	41
IV.5 Edad de los pacientes y niveles de citocinas	41

IV.6 Grupo étnico y niveles de citocinas	42
V. Discusión	53
VI. Conclusiones	59
VII. Recomendaciones	60
VIII. Referencias Bibliográficas	61
IX. Anexos	70

LISTA DE SIMBOLOS, ABREVIATURAS y SIGLAS

Cag A:	toxina de virulencia de <i>H. pylori</i>
CD:	células dendríticas
CG:	cáncer gástrico
CIOMS:	Pautas Éticas Internacionales para la Investigación Relacionada con Seres Humanos
DNA:	ácido desoxirribonucleico
DupA:	factor de virulencia de <i>H. pylori</i>
FR-beta:	receptor de folato beta
h:	habitantes
HLA:	complejo principal de histocompatibilidad
<i>H. pylori</i> :	<i>Helicobacter pylori</i>
HtrA:	Serina proteasa enzima mitocondrial
IC:	intervalo de confianza
IFN γ :	interferón gamma
IL1 β :	interleucina o citocina 1 beta
IL-2:	interleucina o citocina 2
IL-4:	interleucina o citocina 4
IL-6:	interleucina o citocina 6
IL-8:	interleucina o citocina 8
IL-10:	interleucina o citocina 10
IL-12:	interleucina o citocina 12
IL-17A:	interleucina o citocina de la familia de IL17
IL-18:	interleucina o citocina 18
INCAN:	Instituto Nacional de Cancerología
MALT:	tejido linfoideo asociado a las mucosas

MCP1:	proteína quimiotáctica de los macrófagos
MSD:	MULTI-SPOT Assay System
OD:	Tasa de Odds
OLGA:	Enlace Operativo para la Evaluación de la Gastritis
OMS:	Organización Mundial de la Salud
PDL-1:	ligando 1 de muerte celular programada
PG:	Pepsinógenos
pg/ml:	picogramos por mililitro
RNA:	ácido ribonucleico
suPAR	receptor de la proteína activadora del plasminógeno
SLAMF8:	activador linfocitario 8 (SLAMF8),
T4SS:	Sistema de secreción tipo IV
T CD4:	Linfocitos del linaje T con funciones efectoras /reguladoras
TGF β :	Factor transformador de crecimiento beta
Th1:	Linfocitos T helper (ayudadores) sub población 1: efectores
Th2:	Linfocitos T helper (ayudadores) sub población 2: reguladores
Th17:	Linfocitos T de la subpoblación 17
TNF α :	Factor de necrosis tumoral
TNFR:	receptor del factor de necrosis tumoral
TNM:	Tumor, Nódulo, Metástasis
u PAR:	proteína activadora del plasminógeno
Vac A:	Toxina vacuolizante de H. pylori

ÍNDICE DE FIGURAS

	p
Figura 1: Comparación de los niveles IFN γ pg/ml entre los casos y controles	45
Figura 2: Comparación de los niveles IL-4 pg/ml entre los casos y controles	45
Figura 3: Comparación de los niveles IL-10pg/ml entre los casos y controles	46
Figura 4: Comparación de los niveles IL 17-Apg/ml entre los casos y controles	46
Figura 5: Comparación de los niveles IL-1 β pg/ml entre los casos y controles	47
Figura 6: Comparación de los niveles IL-6 pg/ml entre los casos y controles	47
Figura 7: Comparación de los niveles TNF α pg/ml entre los casos y controles	48
Figura 8: Asociación entre los niveles de citocinas de Th1, Th2, Th17 y otras citocinas pro inflamatoria y cáncer gástrico	49
Figura 9 Asociación entre status <i>H. pylori</i> , con los niveles de IL-10	49
Figura 10: Comparación de los Niveles de IFN γ entre los casos de CG Tipo difuso e intestinal	50
Figura 11: Niveles plasmáticos de TNF α en pacientes con CG en dos grupos de edad	51
Figura 12: Niveles de IL 17-A en pacientes con CG en dos grupos de edad	51
Figura 13: Niveles de IL-10 por grupo étnico	52

ÍNDICE DE CUADROS

	p
Cuadro	p
Cuadro 1: Características demográficas de los participantes en el estudio	43
Cuadro 2. Características clínicas de los casos de CG	44

I. RESUMEN

El cáncer gástrico (CG) es un problema prevalente a nivel mundial, que se presenta aproximadamente en un millón de nuevos casos anuales, lo que representa el 6.8% del total, siendo la cuarta neoplasia maligna más común en el mundo. En Guatemala se sitúa entre las primeras tres neoplasias más frecuentes en ambos sexos. El CG se asocia a factores genéticos del hospedero y a factores externos como el tabaquismo y la infección por *Helicobacter pylori* (*H. pylori*). Se reconoce que en la patogénesis del CG existe un proceso inflamatorio crónico que se inicia como gastritis crónica, que evoluciona a metaplasia y displasia siguiendo la cascada de desarrollo hacia CG. El proceso inflamatorio es regulado por diversas células y moléculas inmunes, como las citocinas y quimiocinas en el microambiente tumoral, dichas moléculas pueden pasar a la circulación sanguínea y ser detectadas y cuantificadas. Diversos estudios previos han postulado que los niveles séricos de citocinas pueden contribuir al diagnóstico temprano de CG.

El objetivo del presente estudio fue analizar el perfil de citocinas Th1, Th2, Th17 y otras citocinas pro inflamatorias producidas por distintos tipos de células: IL-1 β , IL-6 y TNF α , en muestras plasmáticas de 70 pacientes con diagnóstico de CG y compararlos con los niveles de las mismas citocinas de un grupo control de 132 sujetos quienes eran sanos y equiparables en edad y sexo, el propósito fue comparar si existían diferencias significativas e identificar las citocinas directamente asociadas a CG que pudieran contribuir a la identificación temprana de casos, así mismo profundizar en el entendimiento de la respuesta inmune en esta patología.

Los casos de CG, fueron diagnosticados en la Unidad de Gastroenterología del Hospital Roosevelt, el Instituto Nacional de Cancerología -INCAN-y un paciente de Gastrocentro a quienes se les realizó historia clínica, biopsia gástrica y formaron parte de un estudio previo. Las biopsias fueron clasificadas macroscópicamente según Borrmann en grados I, II, III y IV y microscópicamente, según la clasificación de Lauren.

Se analizó la base de datos de los casos y los controles: edad, sexo, etnia, tipo de CG según clasificación de Borrmann, estadificación y clasificación de Lauren, así mismo, el estatus de anticuerpos anti *H. pylori*. Se midieron los niveles de las citocinas utilizando el

sistema “MSD MULTI-SPOT Assay System (Meso Scale Discovery, Rockville, Maryland, USA).

Se encontró que en los casos de CG la mayoría tenían edad promedio de 59.5 años, siendo la mayoría de sexo masculino (54%), la mayoría referían ser de etnia mestiza conocida como ladina (71%). Respecto al status de infección por *H. pylori*, se encontró que el 51% era positivo para anticuerpos anti *H. pylori*. Con respecto a las características del CG, la mayoría de pacientes tenía adenocarcinoma grado III según Borrmann siendo 50 casos (71.4%); según la clasificación microscópica de Lauren, la mayoría de pacientes tenía CG de tipo intestinal 39 (55.7%), seguido por el tipo difuso 29 (41.4%) y tipo mixto 2 (3%). La región anatómica, fue en el cuerpo 30 (44%) seguido por el antro del estómago. El estadio clínico fue principalmente el perteneciente al grado II, 27 casos correspondiendo al (40.3%).

Con relación a los niveles de citocinas plasmáticas, se encontró por regresión logística, que la citocina pro inflamatoria IL-6 y la citocina de Th2 IL-10, se encuentran asociadas significativamente a CG independientemente del estatus de infección por *H. pylori*. Para las siete citocinas estudiadas, se encontró que los casos con diagnóstico de CG tenían niveles significativamente elevados en comparación de sus respectivos controles, Th1: (IFN γ : $p=0.025$), Th2:(IL-4: $p<0.0001$, IL-10: $p<0.0001$), Th17: (IL-17A: $p<0.0001$) otras citocinas pro inflamatorias (IL-1 β : $p<0.0001$, IL-6: $p<0.0001$, TNF α : $p<0.0001$). Los niveles plasmáticos de IFN γ se encontraron significativamente elevados en los casos de CG con diagnóstico microscópico tipo difuso, según clasificación de Lauren. Los adultos mayores de 60 años presentaron niveles significativamente más altos de TNF α e IL-17A que los menores de 60 años. Con relación al grupo étnico, se encontró que la única citocina que marcó diferencia según grupo étnico fue la IL-10, encontrándose significativamente elevada en la etnia indígena. Para evaluar la posible relación entre la positividad para anticuerpos anti *H. pylori* con niveles elevados de IL-10, se realizó el análisis según positividad para *H. pylori* y niveles de IL-10, encontrando que no existen diferencias significativas entre ambos grupos.

La asociación significativa por regresión logística, de dos citocinas (IL-6 e IL-10) en los casos de CG independientemente del status para *H. pylori*, demuestra la utilidad potencial de estos biomarcadores en la detección temprana y no invasiva de CG, así mismo orienta a enmarcar a los casos de CG estudiados hacia un perfil de citocinas de Th2.

II. MARCO TEÓRICO

II.1 Introducción

El cáncer gástrico, CG ocupa el cuarto lugar entre las neoplasias malignas más frecuentes a nivel mundial y es tercero en mortalidad, después del cáncer de pulmón e hígado. Las tasas mortalidad varían geográficamente, siendo particularmente elevadas en los países en desarrollo como Guatemala, donde se ha reconocido que en varias regiones hay un deficiente registro de datos (Ferlay *et al.*, 2015). A pesar de eso se reporta que se presentan más de 16.7 casos por 100,000 habitantes, ocupando el segundo lugar en incidencia de las neoplasias malignas al considerar ambos sexos, y de acuerdo a la tasa estandarizada de mortalidad, es el segundo lugar como causa de muerte entre los canceres registrados, seguido por el cáncer de cérvix en mujeres (Ferlay *et al.*, 2018). La información recientemente publicada en este tema, confirma lo reportado previamente, para el año 2020, era el quinto en incidencia y el cuarto en mortalidad a nivel mundial (Sung *et al.*, 2020).

Se considera que diversos factores de riesgo convergen en el desarrollo de este tipo de cáncer, entre ellos, la edad avanzada, el sexo masculino (Piazuelo & Correa, 2013), predisposición genética relacionada con el complejo principal de histocompatibilidad (HLA) (Herrera-Goepfert *et al.*, 2004), así mismo otros factores como la pobreza, dieta, tabaquismo, el estilo de vida que condiciona sobrepeso y obesidad, así como la infección por *H. pylori* (Nagini, 2012).

La bacteria Gram negativa, *H. pylori* se ha categorizado como carcinógeno humano y es la mayor causa de CG especialmente de la parte distal del estómago. La asociación de la infección por *H. pylori* con CG ha sido demostrada, incluso ilustrando la progresión histológica del mismo desde las primeras etapas inflamatorias. *H. pylori*, se aloja en el antro gástrico y en un tiempo prolongado afecta progresivamente el tejido a su alrededor, ocasionado lesiones tales como gastritis crónica, la cual evoluciona a atrofia, metaplasia, displasia y posteriormente a adenocarcinoma (Correa & Houghton, 2007).

Respecto a la alta letalidad del CG, se considera que se debe por un lado a la etapa tardía en que se diagnostica, por presentar pocos síntomas y ser de larga duración, así mismo a los métodos utilizados en su detección, los cuales requieren personal y equipo especializado, tales como la gastroscopia y la observación de la biopsia gástrica (Catalano *et*

al., 2009). Se ha reconocido que la detección y el manejo temprano de lesiones premalignas y a nivel gástrico son medidas que contribuyen a mejorar la calidad de vida y también a evitar la muerte por esta enfermedad (Gómez *et al.*, 2015). La patogénesis del *H. pylori* en enfermedad gástrica pre-maligna y maligna, se desencadena por un proceso inflamatorio crónico persistente (Peek *et al.*, 2010; Petrovchich & Ford, 2016). El proceso induce la producción de una diversidad de moléculas en el microambiente tumoral, mismas que pueden pasar a la circulación sistémica.

La respuesta inflamatoria observada en la infección por *H. pylori*, involucra la activación de células T, que genera la producción de diversas citocinas que median la respuesta inflamatoria persistente. Algunas citocinas han sido estudiadas como predictores tempranos de una lesión maligna, entre ellas la IL-1 β , IL-6, TNF α , IL-10, IFN γ e IL-4, proponiéndose que podrían predecir tempranamente la malignidad de una lesión gástrica, (Sánchez-Zauco *et al.*, 2017). Se ha estudiado también que los polimorfismos de IL-17 se relacionan con el riesgo de sufrir CG (Long *et al.*, 2015).

La importancia de utilizar diversos biomarcadores séricos ha sido estudiada por investigadores internacionalmente, para detectar de forma temprana el CG en aras de mejorar su pronóstico, en tal sentido se han estudiado los niveles de pepsinógenos (Zhou *et al.*, 2020), los niveles plasmáticos de la proteína activadora del plasminógeno y su receptor suPAR (Fernández-Bostrán *et al.*, 2020), la detección de RNA metilado (Abbasi & Heydari, 2018), y la detección y cuantificación de citocinas séricas (Sánchez-Zauco *et al.*, 2017).

Tomando en cuenta la necesidad de encontrar biomarcadores séricos que detecten tempranamente las lesiones gástricas malignas y basados en el importante componente inflamatorio que acompaña el desarrollo de CG, se hace necesario estudiar los niveles plasmáticos de citocinas para profundizar el estudio de la respuesta inmune en esta patología, así mismo identificar si alguna citocina de Th1, Th2, Th17 u otras citocinas pro inflamatorias producidas por otros tipos celulares, son útiles en la identificación temprana de los casos de CG.

II.2 Epidemiología del cáncer gástrico:

El cáncer gástrico (CG) es el crecimiento descontrolado de las células del estómago, originándose ya sea en la mucosa muscular o serosa. Es un problema prevalente a nivel mundial, ocupa el cuarto lugar en incidencia de todos los cánceres, la cual se estima en 1 millón de casos nuevos anuales, es la quinta causa de muerte por cáncer. Es el cuarto en incidencia de todos los cánceres a nivel mundial 12.1 /100,000. En Guatemala, se presentan más de 16.4 casos por 100,000 habitantes, el primer lugar en incidencia en ambos sexos. De acuerdo a la tasa estandarizada de mortalidad ocupa en el primer lugar como causa de muerte entre los cánceres registrados en ambos sexos, seguido por el de cérvix en mujeres y de próstata en hombres (World Health Organization, 2012). La mayoría de los pacientes de CG son mayores de 50 años al momento del diagnóstico y la incidencia global es de dos hombres por cada mujer.

En relación con la mortalidad, el CG es el quinto más mortal a nivel mundial, sin embargo, presenta un riesgo acumulativo más alto que las causas que lo preceden (Ferlay *et al.*, 2015). Las tasas de mortalidad varían geográficamente, siendo particularmente elevadas en los países subdesarrollados. La supervivencia a cinco años después del diagnóstico es menor al 30% en la mayoría de los países, lo cual se atribuye principalmente a que, en la mayoría de los casos, la enfermedad es diagnosticada en etapa avanzada, cuando la probabilidad de tratamiento efectivo es escasa (Bertuccio, 2009) (Ferlay *et al.*, 2015). En tal sentido la prevención del CG sería de gran utilidad, por un lado, evitar los factores externos, como la infección por *H. pylori*, así como también el monitoreo y diagnóstico temprano, seguimiento de los casos (Pasechnikov, 2014).

II.3 Diagnóstico y Clasificación del cáncer gástrico:

El diagnóstico de cáncer gástrico se establece por medio de la observación histológica del tejido gástrico obtenido por biopsia realizada por especialista, este método es fundamental para la evaluación de la presencia de células malignas, así como el grado de degeneración celular que se presente y su clasificación internacional para la estadificación tumores TNM: La Sociedad Americana del Cáncer, ha publicado la clasificación anatómica de la localización del tumor, en los últimos 50 años esta clasificación general se relaciona con el

estadio del tumor, en donde T, es la localización inicial del tumor, N: se refiere a la localización de ganglios linfáticos afectados, y M: se refiere lesiones distantes o metástasis. Esta clasificación inicial del tumor, sigue siendo de utilidad ya que contribuye a la toma de decisiones clínicas respecto a un paciente. La clasificación macroscópica de Borrmann sigue siendo útil, se realiza de acuerdo con su apariencia y puede ser dividida en cuatro tipos: Tipo I: polipoide: tumor bien delimitado y circunscrito, Tipo II Fungoide: tumor polipoide con una marcada infiltración central, Tipo III: Ulcerado: tumor ulcerado con bordes infiltrativos, Tipo IV: Infiltrativo: linitis plástica (Catalano *et al.*, 2009).

Otros criterios específicos para la clasificación del CG, se basa en sus características microscópicas e histológicas, existen diferentes sistemas de clasificación del CG en lo que se sobresalen, el sistema japonés, el de la Organización Mundial de la Salud (OMS) y el más utilizado que es el sistema de Lauren (Catalano *et al.*, 2005).

Este último sistema de clasificación (Lauren) divide al CG en dos subtipos, intestinal y difuso, los cuales presentan diferencias importantes a nivel epidemiológico, etiopatológico y molecular (Catalano *et al.*, 2005; Correa & Houghton, 2007).

La evolución progresiva maligna del cáncer gástrico tipo intestinal a partir de un proceso de gastritis crónica por *H. pylori*, evoluciona a un proceso de atrofia, metaplasia y displasia, el que fue descrito desde 1988 por Pelayo Correa; esta cascada en la evolución, ha sido usada hasta la actualidad (Yakirevich & Resnick, 2013). Los adenocarcinomas pertenecientes al tipo difuso se han observado que tienen un comportamiento más agresivo y peor pronóstico que los del tipo intestinal y como se mencionó previamente, la localización anatómica, los adenocarcinomas proximales y distales son también tomados en cuenta en su clasificación actual (Piazuelo & Correa, 2013).

La localización anatómica del tumor maligno en el estómago es también considerada como un parámetro importante para la clasificación del CG. De acuerdo a la localización anatómica se pueden distinguir dos tipos de cáncer gástrico: aquellos situados en la región distal o cáncer no cardial, que se originan en el cuerpo y el antro a diferencia de los que se localizan en la región más proximal de este órgano o cáncer cardial, son subtipos anatómicos

que presentan diferencias importantes en su etiología y epidemiología (McColl, 2006); (Hansen *et al.*, 2007).

La Organización Mundial de la Salud divide el CG en papilar, tubular, mucinoso (coloidal) y pobremente diferenciado. Estos dos últimos sistemas de clasificación permiten una mejor comprensión de la histogénesis y la biología del cáncer gástrico, pero tienen una utilidad clínica limitada para guiar la terapia del paciente debido a la heterogeneidad molecular del cáncer gástrico.

El Sistema Sydney para la clasificación de gastritis, enfatiza dos aspectos importantes, toma en cuenta la topografía, morfología y la etiología de la misma para que puedan darse diagnósticos reproducibles y útiles desde el punto de vista clínico. Este sistema se evaluó en Houston en 1994, llegando a consenso entre patólogos gastrointestinales de varias partes del mundo, para establecer una terminología para la gastritis y lograr resolver algunos problemas terminológicos, se revisaron las categorías principales de esta patología en: estomago atrófico y no atrófico (Dixon *et al.*, 1994).

Basándose en el conocimiento actual de las bases biológicas del desarrollo de la gastritis, incluyendo las experiencias mundiales sobre la aplicación del Sistema de Sydney por más de 15 años, un grupo de patólogos se reunió en el conocido “Enlace Operativo para la Evaluación de la Gastritis” (OLGA por sus siglas en inglés) y propuesto un sistema para estadificar la gastritis, organizando los tipos histológicos de gastritis a lo largo de una escala de riesgo de evolucionar a cáncer gástrico el cual aumenta progresivamente desde el más bajo riesgo, etapa 0, hasta el más alto, etapa IV. La revisión del sistema Sydney, estableció que se deben tomar varias biopsias gástricas para explorar los diferentes compartimentos de la mucosa.

Los grados de atrofia en la mucosa gástrica tienen la siguiente clasificación por su severidad: 0: atrofia ausente, 1: atrofia indefinida con lesiones en el antro o en el cuerpo, 2.1 atrofia presente, pero sin metaplasia en el antro o en el cuerpo en involucra glándulas y lámina propia, 2.2 atrofia presente con metaplasia, metaplasia intestinal en el antro y en el cuerpo, metaplasia pseudopilórica.

La gradación de los mismos se puede separar en los casos 2.1, en tres grados distintos por su severidad en Medio (G1) Moderado (G2) y Severo (G3) y los casos 2.2 es decir con metaplasia en Medio (G1) Moderado (G2) y Severo (G3).

El estadio I, con poca atrofia en la mayoría de casos, especialmente en pacientes infectados con *H. pylori*, la atrofia es detectada solo en algunas muestras.

Estadio II: puede resultar de una combinación de diferentes grados y localización de transformación atrófica, la cual puede afectar la mucosa secretora de moco, pero en la mayoría de casos las lesiones atróficas se detectan en muestras obtenidas del área secretora de moco. La presencia o ausencia de *H. pylori* tiene que ser reportada para una evaluación completa. Por experiencias recabadas, el estadio II de OLGA es el que tiene menor riesgo de cáncer gástrico en un contexto epidemiológico.

Estadio III: este tiene lesiones de atrofia moderada en la mucosa secretora que se observa oxíntica. La atrofia es más frecuentemente identificada en muestras de la incisura *angularis*, el sub tipo de lesión histológica generalmente es atrofia y metaplasia, y se debe reportar la presencia de *H. pylori*. En la mayoría de poblaciones con estadio III presentan bajo riesgo de CG.

Estadio IV: significa atrofia que involucra ambos región antral y mucosa de apariencia oxíntica, corresponde básicamente al fenotipo pan gastritis atrófica.

En pacientes con infección por *H. pylori* hay transformación metaplasica que puede interferir con la detección histológica de la bacteria este estadio no se observa en zonas de baja incidencia de CG. Algunos datos preliminares reportan asociación entre OLGA III y IV y CG, por lo que su vigilancia endoscópica es muy importante. La gastritis atrófica, de tipo intestinal, con tendencia al desarrollo de cambios atróficos que resultan en adenocarcinoma, tiene como principal factor de riesgo la infección crónica por *H. pylori* (Rugge *et al.*, 2008)

II.4 Infección por *H. pylori*

H. pylori es un bacilo Gram negativo, flagelado, patógeno para el ser humano, identificado como agente productor de cáncer gástrico. Esta bacteria, posee una gran variabilidad genética, existen cepas que producen reacción inflamatoria crónica y secretan

hacia el interior de célula gástrica toxinas que la dañan el epitelio gástrico de forma crónica y persistente, entre los mecanismos de virulencia, se encuentran las toxinas codificadas en genes Vac A y Cag A en la isla de patogenicidad conocida como Cag-PAI la cual contiene alrededor de 30 genes que codifican para un complejo proteico llamado sistema de secreción tipo IV, el cual se encuentra en cerca del 60% de las cepas de *H. pylori*, pero con variaciones entre poblaciones. Este sistema de secreción introduce una serie de moléculas al citoplasma de las células epiteliales de la mucosa gástrica, entre ellas la proteína CagA (Shaffer *et al.*, 2011). Estudios llevados a cabo con ratones transgénicos han demostrado que CagA es una oncoproteína capaz de inducir la formación de cáncer en el epitelio gástrico (Ohnishi, 2008). Una vez en el citoplasma, CagA es fosforilada y esto desencadena una serie de eventos a nivel intracelular que incluyen rearrreglos del citoesqueleto, provocando alteraciones en la polaridad de las células epiteliales, *H. pylori* alcanza la célula secretando otra proteína una serina proteasa HtrA que abre las uniones celulares, facilitando la inyección por el sistema de secreción tipo IV (T4SS) de CagA al interior de la célula gástrica (Naumann *et al.*, 2017). Unido a ello, se ha demostrado que la apertura de las uniones de célula a célula dependiente de HtrA y la activación de T4SS pueden ser un mecanismo que permite tanto la colonización como la acción patogénica persistentes de *H. pylori* (Cover, 2016). En el desarrollo de CG *H. pylori* produce la inducción de la expresión de mediadores inflamatorios y activación de mecanismos de señalización que aumenta la proliferación celular, entre otros (Polk & Peek, 2010).

Se han descrito otros mecanismos de patogenicidad asociados a Cag-PAI pero independientes de la translocación o fosforilación de CagA por ejemplo el nivel de fosforilación de la tirosina de CagA en las células del hospedero está influenciado por las diferentes regiones EPIYA dentro de la proteína que pueden sufrir fosforilación, las proteínas CagA que tienen mayor número de EPIYAS presentan una mayor unión a sus dianas intracelulares por lo tanto una mayor actividad dentro de la célula y la sub siguiente transformación a célula maligna será mayor (Backert & Blaser, 2016).

Adicionalmente, VacA es una proteína citotóxica, codificada por el gen *VacA*, que induce la formación de vacuolas que producen una serie de daños intracelulares en el epitelio gástrico (Polk & Peek, 2010). Aunque todas las cepas de *H. pylori* producen esta proteína,

los niveles de expresión varían en función del genotipo de polimorfismos presentes en tres sitios específicos del gen *VacA*, denominados región señal (s), región media (m) y región intermedia (i). Ciertos haplotipos de estos sitios polimórficos han sido asociados con un mayor riesgo de desarrollar CG (Cover & Blanke, 2005). Las variantes genotípicas de *Vac*s1m1 *Cag A+* se ha encontrado que están más asociadas a ulcera gástrica, ulcera duodenal y CG produciendo un alto grado de actividad neutrofílica, desarrollo de metaplasia intestinal y concentraciones locales muy altas de IF γ e IL-12 (Vinagre *et al.*, 2018).

En tal sentido, la patogénesis del *H. pylori* para el desarrollo de enfermedad gástrica pre-maligna y maligna, se relaciona con un proceso inflamatorio crónico persistente que daña la célula gástrica de forma irreversible (Parsonnet *et al.*, 1991). Por otro lado, se ha descrito que cuando personas portadoras de *H. pylori*, migran de otro continente como África, hacia Asia, la virulencia se puede ver incrementada, se ha postulado que se puede deber en parte, a otro factor de virulencia conocido como DupA (Yamaoka, 2010).

II.5 Citocinas en infección por *H. pylori* y CG

De acuerdo con Negovan y colaboradores (2019), la interleucina 1 (IL-1), es una citocina proinflamatoria que inhibe la secreción de ácido gástrico, promueve un aumento en la colonización de *H. pylori* que conduce a una gastritis más severa, está relacionada en la carcinogénesis posterior y progresión tumoral. La IL-10 es una citocina antiinflamatoria que tiene un rol importante en la respuesta inflamatoria, ya que inhibe la síntesis de algunas citocinas proinflamatorias como IL-1 β , IL-6, IL-12 y TNF- α , esto lleva a la regulación o moderación de una reacción inflamatoria. Se considera que la IL-10 está involucrada en la respuesta inmune a la infección por *H. pylori*. Otra importante citocina es el interferón γ , (IFN γ) el cual es una citocina proinflamatoria de linfocitos CD4, Th1. Sus efectos se observan ante infecciones virales, antimicrobianas y anti tumorales. Es inhibidor de la angiogénesis es capaz de tener efectos antiproliferativo y antimetabólico directos sobre una amplia variedad de células tumorales. Se han relacionado algunos polimorfismos con el riesgo de sufrir cáncer gástrico de inicio temprano.

El factor de necrosis tumoral α (TNF- α), es otra citocina proinflamatoria y sus niveles pueden estar influenciados por las variantes alélicas en la región promotora del gen TNF- α .

Su relación con CG aún es muy controversial ya que no se ha encontrado relación en poblaciones eslovenas, pero se ha descrito que en estudios en poblaciones asiáticas existe relación con algunos polimorfismos de esta molécula y el cáncer gástrico (Alpizar-Alpizar *et al.*, 2009). En pacientes latinoamericanos, no se encontró diferencia significativa entre los casos de CG y sus controles (Sánchez-Zauco *et al.*, 2017).

Por otro lado, la interleucina 4 (IL-4), es una citocina inmunomoduladora que tiene un rol papel importante en la regulación de la diferenciación y activación de los linfocitos. Además, otra función que se ha descrito es que IL-4 inhibe la secreción de citocinas proinflamatorias para promover las células tumorales, afectando en particular a IL-1, IL-6 y TNF- α . De allí su importancia de estudiarla en la tumorigenesis por *H. pylori*. Además, se ha encontrado asociación de algunas variantes alélicas de esta citocina con CG tipo intestinal (Cho & Kim, 2017). Con relación a la Interleucina 6, (IL-6), esta es una citocina multifuncional que actúa tanto como un regulador endocrino como un mediador inflamatorio. IL-6 juega un rol de importancia en los mecanismos de defensa del huésped, ya que actúa como mediador entre el sistema inmune innato y el adaptativo. Existen estudios que han descrito la presencia del alelo IL-6 -174 G asociado con una mayor producción de IL-6 en comparación con individuos con variables genotípicas de CC. Otras investigaciones han descrito niveles más altos de IL-6 en la mucosa gástrica en pacientes con *H. pylori* positivo en comparación con los casos de *H. pylori* negativo (Landskron *et al.*, 2014).

Respecto a la interleucina 17 (IL-17), esta es una citocina proinflamatoria que ha sido estudiada en su relación con cáncer gástrico. Un reciente meta-análisis demostró que los efectos generales de dos polimorfismos se asociaron significativamente con la susceptibilidad al cáncer gástrico. En el análisis de etnicidad, estos dos polimorfismos se asociaron con poblaciones asiáticas, pero no con caucásicos (Jie-Fang *et al.*, 2019).

II.6 Niveles séricos de citocinas y detección de CG

La estimulación de la respuesta inmune del hospedero por medio de la producción de citocinas proinflamatorias como IL-8, IL-6, IL-1 β , atraen y activan a los neutrófilos y monocitos provocando una reacción inflamatoria y gastritis crónica, la infección por *H. pylori* también produce infiltración de células dendríticas y linfocitos T y B y estimula la

producción la proteína quimiotáctica de los macrófagos MCP1, factor de necrosis tumoral alfa, IL-10 e IL-12, factor de crecimiento transformante beta (TGF- β) e interferón gamma (IFN γ) (Amieva & Peek, 2016). Se han descrito factores de los genéticos del huésped que determinan el desarrollo del CG, tales como algunas variantes polimórficas de genes que codifican citocinas, especialmente las relacionadas con la regulación de la respuesta inflamatoria (El-Omar *et al.*, 2000).

Los citados mediadores inflamatorios producidos en la mucosa, pueden alcanzar el torrente sanguíneo y ser medidos a nivel sérico. Idealmente, los biomarcadores deberían detectar las etapas tempranas (I / II) de la enfermedad cuando las oportunidades de curación son más altas, aunque estos mediadores inflamatorios producidos localmente en la mucosa gástrica pueden alcanzar la circulación sanguínea y detectarse en muestras de plasma (Sánchez-Zaucó *et al.*, 2017).

Se ha descrito que un fuerte sesgo de las células T CD4 + hacia un fenotipo Th1 está asociado con infección por *H. pylori* menos severa, y pudo observarse en infección a corto plazo y después sostenida. Sin embargo, parece que *H. pylori* ha desarrollado estrategias con las cuales prevenir la inducción de células T CD4 + sesgadas a fenotipo Th1 (Vinagre *et al.*, 2018). Se ha demostrado experimentalmente, que durante la infección por *H. pylori* se puede producir un sesgo del equilibrio entre células Th1 /Th2 a favor de las últimas al reducir la secreción de IL-12 (Kao *et al.*, 2006).

Otro tópico investigado con relación al rol de las citocinas, son sus variantes genéticas y su relación con la gastritis por *H. pylori*, así como su evolución a lesiones atróficas gástricas y metaplasia, se han realizado estudios que no son concluyentes a la fecha. Las variantes en un solo nucleótido se han investigado para CG. Las variantes de IL-10 T-819C, IL-8-251, IL-18RA P917997, IL-22 rs1179251, IL1-B-511, IL1-B- 3954, IL4R-398 e IL1RN se han identificado como algunos de los predictores de lesiones gástricas pre malignas (Negovan *et al.*, 2019).

Los niveles de diversas citocinas séricas han sido estudiados como respuesta al cáncer gástrico y como posibilidad diagnóstica de lesiones malignas. Los niveles de citocinas como IFN- γ , TNF- α , IL-1, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, e IL-18 se han encontrado significativamente

elevados a nivel local en el estómago de los pacientes infectados con *H. pylori*, en contraste con sus controles no infectados (Lindholm *et al.*, 1998).

Recientemente un estudio comparó diferentes citocinas en un grupo de pacientes con CG cáncer y controles sanos, encontrando once con valores significativamente más altos en los casos que en los controles, siendo estos, el receptor 1 del IFN- γ , el Notch-3, el receptor del Factor de necrosis tumoral (TNFR), el receptor de la hormona del crecimiento, el activador linfocitario 8 (SLAMF8), el receptor de folato beta (FR-beta), la integrina alfa 5, galectina 8. El hallazgo más importante es que se ha descrito por primera vez como estas proteínas pueden diagnosticar y evaluar el pronóstico del CG (Wu *et al.*, 2019).

Se identificó recientemente un factor no proteínico en los sonicados de *H. pylori* que tiene la capacidad de prevenir la secreción de IL-12 por células dendríticas CD *in vitro*, lo que indica que *H. pylori* actúa suprimiendo activamente la función de dichas células, en lugar de causar agotamiento a través de la estimulación crónica. Estas observaciones sugieren que *H. pylori* logra regular la inmunidad Th1 a su favor, desviando CDs hacia un perfil de citocina que es más propicio para las respuestas Th2, representando así otra estrategia con la cual evade el reconocimiento de CD y la posterior respuesta de células T.

Adicionalmente, se ha reportado que niveles citocinas IL-1 β , IL-6, TNF α , IL-10, IFN γ , IL-4 pueden predecir la malignidad de una lesión gástrica (Sánchez-Zauco *et al.*, 2017).

Mediadores inflamatorios como TNF- α , IL-6, TGF- β , e IL-10 han sido estudiados como moléculas que participan en la iniciación progresión del cáncer en el microambiente tumoral, el cual está formado por células estromales, infiltrado de células inmunes y las células tumorales, existen moléculas que promueven la carcinogénesis.

Existe evidencia que apoya la participación de las citocinas en los eventos que intervienen en la iniciación, estimulación, invasión y metástasis del cáncer. En el proceso inflamatorio crónico, las citocinas tales como TNF- α , e IL-6 inducen la generación de radicales libres que dañan el DNA causando mutaciones que permiten la iniciación del tumor.

El desarrollo del tumor también es favorecido por citocinas pro inflamatorias que estimulan la proliferación celular reduciendo la apoptosis, mientras que las citocinas anti inflamatorias

tales como IL-10 y TGF- β , contribuyen a la inmunoevasión del tumor. Las propiedades invasivas del tumor se han relacionado al factor de necrosis tumoral (TNF). El factor transformador de crecimiento beta TGF β favorece la transición de epitelio mesenquimal y otras citocinas como TNF- α e IL-6 juegan un papel importante en la angiogénesis y la metástasis. En este contexto se ha propuesto el uso de la determinación sérica de citocinas tales como IL-6 e IL-10 como marcadores diagnósticos, aunque los autores sugieren que es necesario realizar estudios con mayor número de casos (Landskron *et al.*, 2014).

La IL-10, ha sido también estudiada y se han medido los niveles séricos; se ha observado que los niveles elevados de IL-10 podría ser un biomarcador útil en el diagnóstico de adenocarcinoma gástrico, sin embargo se sugiere realizar estudios con un número mayor de pacientes y realizar comparaciones con grupo control que tengan edad similar edad, también se sugiere que la expresión de IL-10 puede ser un marcador útil para distinguir el estadio clínico en el cual se encuentra el paciente con cáncer (Shokrzadeh *et al.*, 2018).

Otro estudio evaluó muestras plasmáticas de 99 pacientes con cáncer gástrico, se midieron niveles de IFN γ , TNF α , FGF β 1 y las citocinas IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p40, IL-12p70, y el factor de crecimiento endotelial. Se estudió la asociación entre las citocinas, factores de crecimiento, la demografía y las características clínicas. Se encontró una correlación entre las citocinas, y factores de crecimiento, encontrando que en hombres los niveles plasmáticos más elevados de TNF α , IL-12p70, IL-4, IL-10, comparado con mujeres ($p < .05$). Los niveles plasmáticos de TNF α en pacientes adultos mayores con cáncer gástrico (≥ 60 años) se encontraron más altos que pacientes jóvenes ($p < .05$). Los niveles elevados de IL-8 e IL-10 se identificaron como factores de riesgo para el aumento en el tamaño del tumor (diámetro ≥ 5 cm). Los niveles más altos de TGF β 1 se asociaron con un aumento de riesgo de invasión a tejido vascular y nervioso.

Los citados resultados sugieren que las citocinas plasmáticas y los niveles de factores de crecimiento, pueden ayudar a predecir el desarrollo y progresión del cáncer gástrico, proponiéndose validar estos hallazgos en estudios con mayor número de casos. (Zou *et al.*, 2018).

II.7 Planteamiento del problema

El cáncer gástrico (CG) es un problema prevalente a nivel mundial, presentándose 14 millones de nuevos casos y 8 millones de muertes anuales, siendo el cuarto en prevalencia. En Guatemala ocupa el primer lugar en incidencia y mortalidad (17%) y (22%), respectivamente. La alta mortalidad, se debe a la etapa tardía en la que se detecta y los métodos de diagnóstico que requieren personal y equipo especializado como lo son la gastroscopia y la observación patológica de la biopsia gástrica. El CG se asocia a infección por *H. pylori*, patógeno considerado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como un agente productor de cáncer gástrico (Correa & Houghton, 2007). El *H. Pylori*, induce una reacción inflamatoria mediada por citocinas la cual produce cambios histológicos degenerativos y liberación de moléculas que pueden ser detectadas por métodos de laboratorio.

Estudios previos de nuestras investigaciones, han identificado que algunas moléculas cuantificadas a nivel plasmático están relacionadas al desarrollo de lesiones gástricas malignas, una de ellas es la proteína suPAR (Wellmann *et al.*, 2018). Otros biomarcadores como los pepsinógenos (PG) pueden tener valor diagnóstico y / o pronóstico en pacientes con GC. Los niveles plasmáticos pueden verse afectados por la infección por *H. pylori* principalmente cuando las cepas de *H pylori* son portadoras de los genes de la citotoxina (CagA) (Ohnishi *et al.*, 2008).

Por otro lado, la respuesta inflamatoria que estimula la infección por *H. pylori*, involucra la activación del sistema inmune, éste genera la producción de diversas citocinas. Algunas citocinas han sido estudiadas en su rol como desencadenantes de la reacción inflamatoria crónica y también como predictores tempranos de una lesión maligna, entre ellas se han descrito tanto citocinas pro inflamatorias como citocinas anti inflamatorias, producidas por distintas células, la IL-1 β , IL-6, TNF α , IL-10, IFN γ e IL-4, postulándose que podrían detectar tempranamente la malignidad de una lesión gástrica, aunque los estudios recomiendan otras investigaciones para profundizar esta hipótesis (Sánchez-Zauco *et al.*, 2017). Se ha estudiado también que los polimorfismos de IL-17 se relacionan con el riesgo de sufrir CG (Long *et al.*, 2015).

Con base en lo anterior, el presente estudio identifica las diferencias significativas entre los niveles de citocinas Th1, Th2, Th17 y otras citocinas pro inflamatorias producidas por distintos tipos celulares: IL-1 β , IL6 y TNF α , en pacientes con diagnóstico de cáncer gástrico, comparado con un grupo control equiparable en edad y sexo. Se relacionan las diferencias de los niveles séricos de los biomarcadores mencionados con los tipos de CG, para identificar aquellos potencialmente útiles en la identificación de una lesión gástrica cancerosa.

La importancia se debe a que el tratamiento y pronóstico del cáncer gástrico depende en gran medida de la detección y diagnóstico temprano. El método usado actualmente en el diagnóstico es la gastroscopia y biopsia gástrica, el que es de gran utilidad, sin embargo, muchas veces se realiza tardíamente, además de ser un método invasivo. Por otro lado, estudios previos indican que los niveles séricos de algunos biomarcadores como la proteína suPAR se encuentran significativamente altos en pacientes con cáncer gástrico y que podrían contribuir a una detección temprana (Wellmann *et al.*, 2018). En tal sentido, sabiendo que el desarrollo del cáncer gástrico depende en gran medida de una reacción inflamatoria crónica mediada por citocinas tales como IL1 β , IL-6, IL-10 e IFN γ , se ha considerado que la detección de éstas mismos podría también contribuir a caracterizarla malignidad de una lesión gástrica (Sánchez-Zauco *et al.*, 2017). Otro grupo de investigadores resalta la importancia de la IL-17 en el diagnóstico de CG (Karabulut *et al.*, 2019).

Considerando los hechos anteriores, es necesario profundizar los estudios que caractericen la respuesta inmune en la fisiopatología del desarrollo de esta lesión maligna, así como establecer las diferencias inmunológicas entre pacientes con CG con respecto a controles sanos con el fin de contribuir a profundizar el estudio de esta entidad clínica y el posible rol de la detección de citocinas como una alternativa no invasiva de esta patología. Las muestras analizadas se obtuvieron de la base de datos y el biobanco de muestras plasmáticas de una investigación previa que caracterizó los casos de CG en Guatemala (Wellmann *et al.*, 2018).

III.- MARCO METODOLÓGICO

III.1 Sede del estudio: Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad de Louisville USA, Hospitales Roosevelt, Instituto Nacional de Cancerología (INCAN), un paciente de un centro privado Gastrocentro y voluntarios procedentes del Laboratorio Clínico del Centro de Investigaciones Biomédicas que participaron en el grupo control y Programa de Doctorado en Ciencias Biomédicas. Departamento de Patología y Medicina de Laboratorio de la Universidad de Louisville, Louisville, KY, USA.

III.2 Consideraciones éticas

La presente investigación está basada en los principios éticos fundamentados en la Declaración de Helsinki, dirigidos a la investigación biomédica en seres humanos la cual debe concordar con los principios científicos aceptados; el diseño y ejecución debe formularse en un protocolo claramente escrito, la investigación la realizarán solo por personas científicamente calificadas, el objetivo deberá ser proporcional al riesgo, respetando la integridad del ser humano, así como la exactitud de los resultados. Las normas de bioseguridad y manejo de desechos se hicieron de acuerdo con lo normado en el país, con respaldo de la empresa ECOTERMO.

El estudio fue aprobado por el Comité de Ética en Investigación ZUGUEME el cual es un comité independiente acreditado ante el Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social de Guatemala. No.PROZU 552-20.

Procedimientos para garantizar aspectos éticos e las investigaciones en seres humanos

Categoría de riesgo: I

Toda investigación o experimentación realizada en seres humanos debe hacerse de acuerdo a tres principios éticos básicos, a saber, respeto a las personas, a la búsqueda del bien y la justicia.

La presente investigación tomó en cuenta los principios éticos aceptados universalmente, las normas CIOMS 2017.

1. Pauta 1: Valor social y científico y respeto a los derechos. El proyecto tiene valor social porque el **cáncer gástrico** afecta una gran proporción de población en el mundo

y en Guatemala. Científico: se orienta a mejorar el entendimiento de los procesos inmunológicos en el CG y a valorar la posibilidad de usar métodos de diagnóstico temprano en su detección lo cual tiene un sustento científico claro en la literatura mundial, realizando modificaciones que pueden llevar con éxito a prevenir la muerte por esta enfermedad.

2. Pauta 11: almacenamiento de materiales biológicos; los materiales biológicos se manipularán siguiendo las normas de bioseguridad estrictas y se almacenaron en el Departamento de Patología y Laboratorio de Medicina de la Universidad de Louisville, Louisville, KY, USA. Las muestras clínicas que fueron examinadas, pertenecen a pacientes de un estudio previo ya publicado (Wellmann *et al.*, 2018.)
3. Adicionalmente se contó con la autorización de la Dra. Alicia Wellmann coordinadora proyecto anterior.
4. En el presente estudio participaremos tres de los coautores del estudio anterior.
5. Pauta 12: almacenamiento de datos; la información recabada será almacenada en un archivo creado para el efecto guardando orden y confidencialidad, en la presente investigación no se tuvo acceso a datos personales (nombre, dirección o teléfono) de los casos ni de los controles.
6. Pauta 11: recolección, almacenamiento y uso de materiales biológicos y datos relacionados:

“Cuando los investigadores procuren usar materiales almacenados que fueron recolectados para investigaciones, usos clínicos u otros propósitos pasados sin haber obtenido el consentimiento informado para su uso futuro en una investigación, el Comité de Ética de la investigación puede omitir el requisito de consentimiento informado individual si: 1) no sería factible o viable realizar la investigación sin la dispensa; 2) la investigación tiene un valor social importante; y 3) la investigación entraña apenas riesgos mínimos para el participante o el grupo al cual este pertenece. Los custodios de los materiales biológicos deben tomar medidas para proteger la confidencialidad de la información vinculada al material, para lo cual deben compartir solo datos anónimos o codificados con los investigadores y limitar el acceso de terceros al material. La clave del código debe permanecer con el custodio

del material biológico. La transferencia de materiales biológicos debe realizarse al amparo de un acuerdo de transferencia de materiales (Regional & Las, 2016).

Declaración de Helsinki.: la misión del médico es velar por la salud de la humanidad, sus conocimientos y su ciencia deben dedicarse a la realización de esta misión.

Principios básicos:

1. La investigación biomédica en seres humanos debe concordar con los principios científicos aceptados.
2. El diseño y ejecución de la investigación debe formularse en un protocolo claramente escrito.
3. Investigación solo por personas científicamente calificadas.
4. El objetivo deberá ser proporcional al riesgo.
5. Valoración de riesgo - beneficio.
6. Respeto a la integridad del ser humano.
7. Evitar cualquier investigación que tenga riesgos impredecibles.
8. Respetar la exactitud de los resultados.
9. Toda investigación debe ser precedida por información completa y clara.

III.4 Hipótesis

El perfil de citocinas Th1, Th2, Th 17 y otras citocinas pro inflamatorias: IL-1 β , IL-6 y TNF α , se encuentran elevadas en los pacientes con cáncer gástrico en comparación con un grupo control.

III.4 Objetivos

General

Analizar el perfil de citocinas Th1, Th2, Th17 y otras citocinas pro inflamatorias producidas por distintos tipos de células, IL-1 β , IL-6 y TNF α en plasma de pacientes con cáncer gástrico.

Específicos

1. Evaluar el perfil plasmático de citocinas de Th1 (IFN γ), Th2 (IL-4, IL-10), Th17 (IL-17A) y las citocinas pro inflamatorias: IL-1 β , IL-6 y TNF α en pacientes con distintos tipos de CG con y sin infección por *H. pylori*, respecto a un grupo control.
2. Relacionar los niveles de citocinas plasmáticas de Th1 (IFN γ), Th2 (IL-4, IL-10), Th17 (IL-17A) y otras citocinas pro inflamatorias: IL-1 β , IL-6 y TNF α , con el tipo de CG según clasificación de Lauren.
3. Determinar si los niveles alguna de las citocinas plasmáticas de Th1 (IFN γ), Th2 (IL-4, IL-10), Th17 (IL-17A) y las citocinas pro inflamatorias: IL-1 β , IL-6 y TNF α , se asocian directamente a CG y son potencialmente útiles para la identificación de casos CG.

III.5 Material y Métodos:

Tipo de estudio: estudio de casos y controles, realizado en pacientes provenientes de hospitales Roosevelt, Instituto Nacional de Cancerología (INCAN) y un paciente de un centro privado Gastrocentro y voluntarios procedentes del Laboratorio Clínico del Centro de Investigaciones Biomédicas que no padecían ninguna enfermedad maligna y participaron en el grupo control.

Universo de estudio:

Población o universo: 750 pacientes con síntomas clínicos de dispepsia e indicación médica de gastroscopia que consultan anualmente a la Unidad de Gastroenterología del hospital Roosevelt. Considerando que la presente investigación tiene un propósito similar que la investigación previa, del cual provienen las muestras (Wellmann et al., 2018), que fue la comparación entre casos de CG y controles, su cálculo es adecuado para el análisis de otras variables cuantitativas, habiéndose realizado a través del programa EPIDAT 3.1, en función de la variable proteínas uPAR, para un contraste o prueba de hipótesis, nivel de significancia de 5%, potencia de 90%, se obtuvieron 64 casos y 128 controles, los cuales fueron apareados por sexo y edad con una variación máxima de 3 años. Se estableció una relación de dos controles por cada caso. Tanto los casos como los controles debieron cumplir correspondientemente con los criterios de inclusión y exclusión que se indican a continuación:

Casos: Criterios de inclusión: diagnóstico de adenocarcinoma gástrico distal/o proximal, incluyendo el cardias del estómago, mayores de edad; criterios de exclusión: pacientes operados por enfermedad remanente o por tumores secundarios, tumores metastásicos que derivan de otros órganos, pacientes tratados por linfoma de MALT u operados por cualquier otra enfermedad gástrica diferente de adenocarcinoma gástrico, pacientes que han recibido quimio/radioterapia, así como pacientes con patologías autoinmunes diagnosticadas previamente. Controles: Criterios de inclusión: Mayores de 18 años, aparentemente sanos, sin historia de cáncer. Criterios de exclusión: personas con cáncer u operados por tumores primarios, personas operadas por enfermedad remanente u operados previamente de cáncer gástrico o por tumores secundarios, tumores metastásicos que derivan de otros órganos,

personas que fueron tratados por linfoma de MALT u operados por cualquier otra enfermedad gástrica diferente de adenocarcinoma gástrico, personas que han recibido quimio/radioterapia, personas con patologías autoinmunes diagnosticadas previamente y personas con cáncer diagnosticado previamente. En el estudio previo a todos los participantes, se les realizó el proceso de consentimiento informado, una encuesta clínico-epidemiológica que incluía datos relacionados a edad, sexo, procedencia, grupo étnico. Periodo de estudio: El presente estudio se realizó en periodo de mayo a noviembre de 2020.

Criterios de selección de los grupos de estudio (inclusión, exclusión)

Casos.

Criterios de inclusión: diagnóstico de adenocarcinoma gástrico distal/o proximal, incluyendo los cardias del estómago, mayores de edad.

Criterios de exclusión: pacientes operados por enfermedad remanente o por tumores secundarios, tumores metastásicos que derivan de otros órganos, pacientes tratados por linfoma de MALT u operados por cualquier otra enfermedad gástrica diferente de adenocarcinoma gástrico, pacientes que han recibido quimio/radioterapia, así como pacientes con patologías autoinmunes diagnosticadas previamente.

Controles.

Criterios de inclusión: Mayores de 18 años, aparentemente sanos, sin historia de cáncer.

Criterios de exclusión: personas con cáncer u operados por tumores primarios, personas operadas por enfermedad remanente u operados previamente de cáncer gástrico, o por tumores secundarios, tumores metastásicos que derivan de otros órganos, personas que fueron tratados por linfoma de MALT u operados por cualquier otra enfermedad gástrica diferente de adenocarcinoma gástrico, personas que han recibido quimio/radioterapia.

Criterios de interpretación en la determinación de citocinas plasmáticas:

Siguiendo las recomendaciones del fabricante y analizando cada muestra en duplicado e incluyendo los controles establecidos por el “kit”, las medias de los límites de detección inferior, definidas como 2.5 desviaciones estándar sobre el blanco (0 pg /mL) fueron:

IL-1 β (0.05 pg/ml, rango : 0.01-0.17) ;

IL-6 (0.06 pg/ml, rango : 0.05-0.09) ;

TNF α (0.04 pg/ml, rango : 0.01-0.13) ;

IFN γ (0.37 pg/ml, rango : 0.21-0.62) ;

IL-4 (0.02 pg/ml, rango : 0.01-0.03) ;

IL-10 (0.04 pg/ml, rango : 0.02-0.08) ;

IL-17A (0.31 pg/ml, rango : 0.19-0.55).

Los coeficientes de variación intra- e inter-ensayo fueron menores de 10% para todas las citocinas.

Variables

Dependientes: niveles de citocinas plasmáticas detectadas en los casos respecto a los controles.

Independientes: Diagnóstico histológico de cáncer gástrico, mayores de 18 años, ambos sexos.

III.6 Análisis estadístico:

Comparación de niveles de citocinas entre casos y controles:

Se elaboró una base de datos que contenía los datos demográficos, clínicos, el estatus para *H. pylori* y los niveles de las siete citocinas estudiadas en pg/ml. Se excluyeron los valores extremos (outliers) para hacer el análisis exploratorio inicial y pruebas de normalidad. Se hicieron las medidas descriptivas mediana, rango y rango intercuartil, se observó que ninguna de las citocinas estudiadas tenía distribución normal, ni en los casos de CG ni en los controles, por lo tanto, se usó la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney para la comparación de los niveles de citocinas entre los grupos (casos y controles).

Asociación de los niveles de citocinas Th1 (IFN γ), Th2 (IL-4, IL-10), IL-17 (IL-17A) y las citocinas pro inflamatorias: IL-1 β , IL-6 y TNF α con CG:

Para evaluar la asociación directa entre los niveles de citocinas y CG y considerarlos posibles predictores de enfermedad gástrica maligna, se realizó regresión logística, se analizaron los

niveles plasmáticos de las siete citocinas cuantificadas como variables cuantitativas y la presencia de anticuerpos anti *H. pylori*, como variable categórica.

III. 7 Procedimientos:

Se contó con 70 muestras plasmáticas de pacientes adultos de ambos sexos colectadas en un estudio anterior denominado: “Valor diagnóstico de las proteínas uPAR en sangre para el cáncer gástrico en Guatemala” (Wellman *et al.*, 2018) el cual reclutó pacientes adultos con síntomas de dispepsia y a quienes se les realizó gastroscopia diagnóstica y fueron diagnosticados con CG. Se incluyeron 132 muestras plasmáticas de adultos sanos que también formaron parte del mismo estudio.

Tanto los casos como los controles debieron cumplir correspondientemente con los criterios de inclusión y exclusión que se indicaron previamente.

Revisión de base de datos: Se revisó, edad, sexo, etnia, tipo de GG, estatus de anticuerpos anti *H. pylori*.

Respecto a la etnia, es pertinente aclarar que en Guatemala existen 25 etnias, de las cuales, 22 tienen origen maya y el resto se dividen en ladina, xinka y garífuna. Respectivamente, cada grupo étnico tiene su propio idioma: 22 lenguas mayas, idioma xinka, garífuna y español (etnia ladina). En el presente estudio, se consideró como indígena, a los grupos que libre y espontáneamente reconocían ser de origen maya, se tuvo 1 persona de origen garífuna y el resto se consideraban ladinos (habla española) (Peláez, 1996).

El estatus de los anticuerpos anti *H. pylori* en se determinó por el resultado obtenido en el estudio previo en el que fueron medidos por el método Elisa, cada muestra fue analizada en dos laboratorios diferentes. En Guatemala en el Centro de Investigaciones Biomédicas de la Facultad de Ciencias Médicas y en Costa Rica en el Instituto Nacional de Salud –INISA-. En Guatemala se usaron kits comerciales de Elisa, siguiendo las especificaciones del fabricante. Costa Rica (INISA): se realizó a través de la prueba de Elisa “in-house” siguiendo la metodología validada previamente. Ninguna de las dos determinaciones incluyó antígenos de cepas de *H. pylori* aisladas de Guatemala.

Medición de Citocinas:

Condiciones: Las muestras plasmáticas clasificadas de los casos y los controles se encontraban almacenadas en congelación a -70°C hasta el momento de su análisis.

Cada muestra fue analizada en duplicado siguiendo todas las recomendaciones del fabricante.

Cuantificación de citocinas Th1 ($\text{IFN}\gamma$), Th2 (IL-4, IL-10), IL-17 (IL-17A) y las citocinas pro inflamatorias: IL-1 β , IL-6 y $\text{TNF}\alpha$:

Los niveles de citocinas en las muestras de plasma fueron medidos utilizando el sistema “MSD MULTI-SPOT Assay System (Meso Scale Discovery, Rockville, Maryland, USA). Este sistema está basado en un inmunoensayo tipo “sandwich” (similar a ELISA), con la diferencia de que los anticuerpos de captura están unidos a microchips colocados dentro de cada pozo de una placa de ensayo (cada pozo puede contener hasta 10 microchips diferentes) y en que la detección se realiza por medio de anticuerpos monoclonales especialmente marcados con un SULFO-TAG® que genera una reacción de electro-quimioluminiscencia, cuya intensidad es directamente proporcional a la cantidad de cada citocina. Para la medición de IL-1 β , IL-6, $\text{TNF}\alpha$, $\text{IFN}\gamma$ IL-4 e IL-10, se utilizó el kit V-Plex Proinflammatory Panel 1 (human), mientras que para la medición de IL-17A, se utilizó el kit V-Plex Cytokine Panel 1 (human) (Meso Scale Discovery, Rockville, Maryland, USA). El procedimiento seguido para el ensayo fue el recomendado por el fabricante. (ver imágenes en el anexo).

IV. RESULTADOS

Fueron analizados un total de 202 sujetos, de los cuales 70 casos eran de pacientes con adenocarcinoma gástrico, de quienes se tenían datos completos, se consideraron 132 controles. Las edades, sexo y grupo étnico, eran equiparables en ambos grupos. La mayoría de los casos de pacientes con adenocarcinoma, presentaban macroscópicamente, según la clasificación de Borrmann, lesión ulcerativa con bordes uniformes que corresponde al tipo III (71.4%), es conocido el mal pronóstico de este tipo de lesión y la sobrevivencia aproximada de 5 años, similar al tipo IV cuando se analizó microscópicamente, según la clasificación de Lauren, la mayoría eran tipo intestinal el (55.7%), seguido por el tipo difuso (41.4%) y tipo mixto (2.8%). La localización anatómica del tumor fue principalmente en el cuerpo y en el antro gástrico. El estadio clínico TNM en la mayoría de casos fue estadio II (40.3%), seguido por estadio IV (28.4%), estadio III (22.4%), e indeterminado (1.5%), Cuadro 2. Respecto a las diferencias por sexos, se encontró que los estadios de CG más avanzados III y IV se presentaron principalmente en el sexo femenino donde solo se tuvieron tres casos de estadio I y II (10%). Con respecto a la edad, la edad promedio de los casos era de 59.5 años, el promedio de edad para los estadios I y II fue de 61.8 años y para los estadios más avanzados III y IV se presentaron en pacientes de ambos sexos mayores de 55 años (53%). Respecto al grupo étnico, se encontró que la mayoría eran ladinos 71% y un 24 % indígenas (Cuadro 1).

IV.1 Comparación de Niveles de citocinas:

En el análisis del perfil de citocinas en los casos de CG, realizado por medio de la medición de los niveles plasmáticos de IFN γ (Th1), IL-4, IL-10 (Th2), IL-17A (Th17) y las citocinas pro inflamatorias IL-1 β , IL-6 y TNF α , se observó que ninguno de los niveles de las citocinas presentó distribución normal por lo que se usó para el análisis comparativo la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney.

Citocina Th1: Al analizar los niveles plasmáticos de IFN γ , tomando como criterio que los valores considerados como detectables deben estar por arriba de 0.37 pg/ml, con un rango: 0.21-0.62 pg/ml, se observó que en los casos de CG se detectaron niveles elevados por arriba de 100 pg/ml, con un valor promedio de 39 pg/ml, lo que no se observó en los controles

sanos. Al realizar el análisis estadístico se evidenció una diferencia significativa entre ambos grupos, con un valor de $p=0.025$.

Citocinas de Th2: Al analizar los niveles de IL-4, tomando como criterio que los valores considerados como detectables deben estar por arriba de 0.02 pg/ml, con un rango entre 0.01-0.03 pg/ml, se observó que, en los casos de CG, se detectaron valores de 0.68 pg/ml, con un valor promedio de 0.05 pg/ml, mientras que una gran proporción de los controles sanos tuvo valores no detectables <0.001 . El análisis estadístico evidenció una diferencia significativa entre los casos y los controles, con un valor de $p < 0.0001$. Cuando se analizaron los niveles de IL-10, tomando como criterio que los valores considerados como detectables deben estar por arriba de 0.04 pg/ml, con un rango: 0.02-0.08 pg/ml, se observó que en los casos de CG se detectaron niveles hasta de 3.79 pg/ml, con un valor promedio de 1.73 pg/ml, mientras que los controles sanos reportaron valores más bajos. Al realizar el análisis estadístico se evidenció diferencia significativa entre ambos grupos, con valor de $p < 0.0001$.

Citocina de Th 17: Al analizar IL-17A, tomando como criterio que los valores considerados detectables deben estar por arriba de 0.31 pg/ml, con un rango entre 0.19-0.55 pg/ml, se observó que en los casos de CG había valores tan elevados como 24.9 pg/ml, con un valor promedio de 8.7 pg/ml, mientras que los controles sanos tuvieron valores más bajos. Al realizar el análisis estadístico se evidenció una diferencia significativamente elevada en los casos respecto al grupo de los controles sanos, con un valor de $p < 0.0001$.

Citocinas pro inflamatorias producidas por otros tipos celulares: IL-1 β : tomando el criterio que los valores considerados como detectables, deben estar por arriba de 0.05 pg/ml, con un rango de 0.01-0.17 pg/ml, se observó que en los casos de CG se encontraron niveles elevados hasta 1.03 pg/ml, con un valor promedio de 0.3 pg/ml, valores que no se detectaron en los controles sanos. Al realizar el análisis estadístico, se evidenció una diferencia significativa en ambos grupos, con un valor de $p < 0.0001$. Cuando se analizaron los niveles plasmáticos de IL-6, tomando el criterio que los valores considerados como detectables deben estar por arriba de 0.06 pg/ml, con un rango de 0.05-0.09 pg/ml, se observó que en los casos de CG se detectaron niveles elevados hasta 100 pg/ml, con un valor promedio de 14 pg/ml, valores que no se detectaron en los controles sanos. Al realizar el análisis estadístico, se evidenció una diferencia significativa entre ambos grupos, con un valor de $p < 0.0001$.

Respecto a los niveles de $TNF\alpha$, tomando como criterio que los valores considerados como detectables, deben estar por arriba de 0.04 pg/ml, con un rango de: 0.01-0.13 pg/ml, se observó que en los casos de CG se detectaron niveles elevados por arriba de 15.3 pg/ml, con un valor promedio de 7.5 pg/ml, valores que no se detectaron en los controles sanos. Al realizar el análisis estadístico, se evidenció una diferencia significativa entre ambos grupos, con un valor de $p < 0.0001$ (figuras 1-7).

IV.2 Asociación entre niveles plasmáticos de citocinas y CG como predictoras de enfermedad maligna gástrica:

Para identificar si alguna citocina se asociaba directamente a la presencia de CG, se realizó regresión logística de los niveles de citocinas y presencia de anticuerpos anti *H. pylori* como factores asociados a CG. Se consideraron como los factores que podrían ser predictores de CG, por lo que se incluyeron los niveles plasmáticos de las citocinas $IFN\gamma$, IL-10, IL-17A, IL-1 β , IL-6 y $TNF\alpha$, como variables cuantitativas y la presencia o ausencia de anticuerpos anti *H. pylori* como variable categórica.

El resultado indicó que la presencia de infección por *H. pylori* no está asociada significativamente a la presencia de CG, OR = 1.601, IC 95 % (0.59 a 4.344) $p = 0.355$.

Respecto a las citocinas asociadas a CG, encontró para $IFN\gamma$ OR: 1.0028 IC 95 % (0.9834,-1.0226) $p = 0.782$, IL4 OR:4442.5342 IC 95 % (0.0003, 7.7939E+10) $p = 0.325$, **IL-10 OR 6.5135, IC95 % (2.2,16.7742) $p < 0.0001$** , e IL 17A OR 1.0162 IC 95 % (0.9101, 1.1348) $p = 0.774$, IL-1 β : un OR 1.5938 IC 95% +(0.2309, -11.0018), $p = 0.635$, **IL-6: OR 1.2858, IC95 % (1.0926 -1.5131), $p < 0.0001$** , $TNF\alpha$ OR 1.2 IC 95 % (0.8788-1.7442) $p = 0.213$. Se evidenció que los niveles plasmáticos de citocinas: IL-6 e IL-10 están asociados significativamente a la presencia de CG (figura 8).

Para evaluar la posible relación entre la positividad para anticuerpos anti *H. pylori* con niveles elevados de IL-10, se realizó el análisis según positividad para *H. pylori* y niveles de IL-10, encontrando que no existen diferencias significativas entre ambos grupos (figura 9).

IV.3 Niveles de citocinas relacionado al tipo microscópico de cáncer (clasificación de Lauren):

Cuando se relacionó el tipo de cáncer (clasificación del Lauren) difuso e intestinal, con los niveles plasmáticos de citocinas, en el grupo de casos con diagnóstico de CG tipo difuso se encontró la citocina de **Th 1: IFN γ** presentó niveles elevados con valores máximos de 118.6 pg/ml, con un valor promedio de 47.9 pg/ml, respecto al grupo de CG que tenía CG tipo intestinal, cuyos niveles de IFN γ eran más bajos. Al realizar el análisis estadístico, se evidenció que los niveles plasmáticos de esta citocina se encuentran significativamente elevados en los casos de CG difuso, con un valor de $p=0.016$ (figura 10). Las otras citocinas estudiadas: IL-1 β , IL-4, IL-10, IL17A IL-6 y TNF α no mostraron diferencias significativas respecto a los tipos de CG diagnosticado, la importancia de este hecho es enfatizar la diferencia en la mayor malignidad de una lesión difusa respecto a la lesión tipo intestinal.

IV.4 Estadio clínico del tumor y relación con niveles plasmáticos de citocinas:

Otra observación realizada fue con respecto al estadio clínico de los pacientes con CG. Este estudio categorizó los estadios I y II que son de mejor pronóstico que los estadios avanzados III y IV, se observó una frecuencia por estadio clínico de 48% de casos correspondían a estadios I y II, 50% a estadios III y IV, un caso indeterminado. Al realizar el análisis estadístico entre los niveles de cada citocina, relacionándolo con los estadios de CG, se encontraron leves diferencias entre los niveles plasmáticos de citocinas en ambos grupos CG I y II y III, IV, estadísticamente las diferencias no fueron significativas (figuras en el anexo).

IV.5 Edad de los pacientes y su relación con niveles plasmáticos de citocinas:

Es conocido que el CG se manifiesta principalmente en adultos mayores por el largo tiempo de desarrollo del proceso patológico, por otro lado, la respuesta inmune es diferente en el adulto mayor, encontrándose un estado de inmunosenescencia. Se analizaron los niveles de citocinas agrupando dos rangos de edad, menores < 60 años y > de 60 años. Se encontraron diferencias en el perfil de citocinas por grupo de edad. Por la prueba no paramétrica de U de Mann-Whitney, fueron las citocinas pro inflamatorias TNF α e IL-17A, valores de $p = .023$ y 0.003 respectivamente, presentando mayores niveles plasmáticos, el grupo de personas mayores de 60 años. Aunque no hubo diferencia significativa, también hay tendencia a valores mayores en el mismo grupo de pacientes con la IL-10 e IL-1 β , (figuras 11 y 12).

IV.6 Etnia de los pacientes y su relación con los niveles plasmáticos de citocinas:

Al relacionar los niveles plasmáticos de citocinas con el grupo étnico de los casos de CG, se encontró que hubo diferencia estadísticamente significativa al analizar los niveles de IL-10, siendo más elevados en el grupo étnico de indígenas, en comparación al grupo de ladinos. Las otras 6 citocinas analizadas presentaron leves diferencias, que, en el análisis estadístico, no fueron significativas (figura 13).

Cuadro 1.

Características demográficas de los participantes en el estudio

		Controles		Casos		
		n =132		n = 70		
Sexo						
	Femenino	60	(44.1%)	32	(45.7%)	
	Masculino	72	(55.9%)	38	(54.2%)	±p:0.630
Edad promedio	DE	58.5 ± 12.6		59.5 ±13		
Etnia						
	Ladino	118	(86.8%)	50	(71.4%)	
	Indígena	17	(12.5%)	19	(27.1%)	
	Otro (garífuna)	1	(0.7%)	1	(1.4%)	

Fuente: base de datos de la investigación

Cuadro 2

Características clínicas de los casos de Cáncer Gástrico

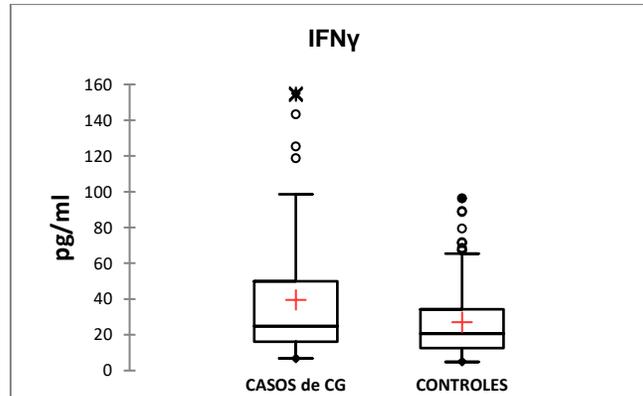
	N	%
Status de anticuerpos a anti <i>H. pylori</i>		
Positivo	36	(51.4%)
Negativo	34	(49.5%)
Tipo de tumor macroscópicamente, (clasificación Borrmann)		
Tipo I (polipoide y fungoide)	8	(11.4)
Tipo II (ulcerativo con bordes irregulares elevados)	4	(5.7)
Tipo III (ulcerativo con bordes uniformes)	50	(71.4)
Tipo IV (difuso con bordes irregulares)	8	(11.4)
Tipo de tumor microscópicamente (clasificación de Lauren)		
Intestinal	39	(55.7)
Difuso	29	(41.4)
Mixto	2	(2.8)
Localización anatómica		
Cardias	0	
Fundus	11	(15.7)
Cuerpo	31	(44.2)
Antro	26	(37.1)
Píloro	2	(2.8)
Estadio Clínico		
I	5	(7.5)
II	27	(40.3)
III	15	(22.4)
IV	19	(28.4)
Indeterminado	1	(1.5)

Fuente: base de datos de la investigación

Figura 1: Describe gráficamente los valores en pg/ml de la citocina de Th1: IFN γ en los casos de CG y se hace una comparación con los valores plasmáticos de cuantificados en los controles sanos, se observa la diferencia en ambos grupos. El análisis estadístico entre ambos muestra que la diferencia es significativa, $p=0.025$.

Figura 1

Comparación de los niveles IFN γ pg/ml entre los casos y controles analizados

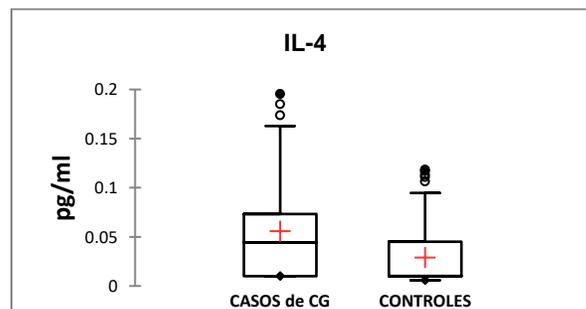


Fuente: análisis estadístico de la investigación

Figura 2: Describe gráficamente los valores en pg/ml de la citocina de Th2: IL-4 en los casos de CG y se hace una comparación con los valores plasmáticos cuantificados en los controles sanos, se observa la diferencia en ambos grupos. El análisis estadístico entre ambos muestra que la diferencia es significativa, $p<0.0001$.

Figura 2

Comparación de los niveles en pg/ml de IL-4 entre los casos y controles analizados

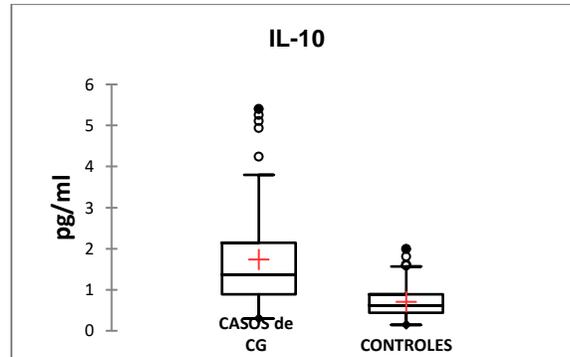


Fuente: análisis estadístico de la investigación

Figura 3: Describe gráficamente los valores en pg/ml de la citocina de Th2: IL-10 en los casos de CG y se hace una comparación con los valores plasmáticos cuantificados en los controles sanos, se observa la diferencia en ambos grupos. El análisis estadístico entre ambos muestra que la diferencia es significativa, $p < 0.0001$.

Figura 3

Comparación de los niveles en pg/ml de IL-10 entre los casos y controles analizados

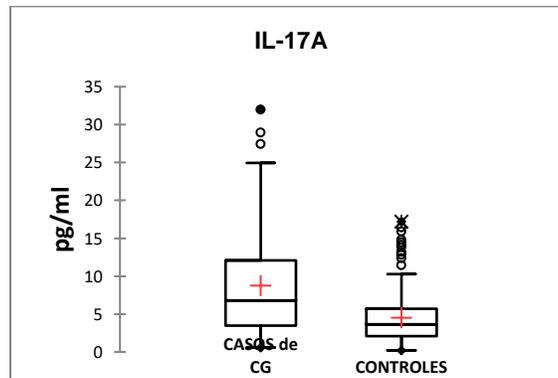


Fuente: análisis estadístico de la investigación

Figura 4: Describe gráficamente los valores en pg/ml de la citocina de Th17: IL-17A en los casos de CG y se hace una comparación con los valores plasmáticos de la misma cuantificados en los controles sanos, se observa la diferencia en ambos grupos. El análisis estadístico entre ambos muestra que la diferencia es significativa, $p < 0.0001$.

Figura 4

Comparación de los niveles en pg/ml de IL-17 A entre los casos y controles analizados

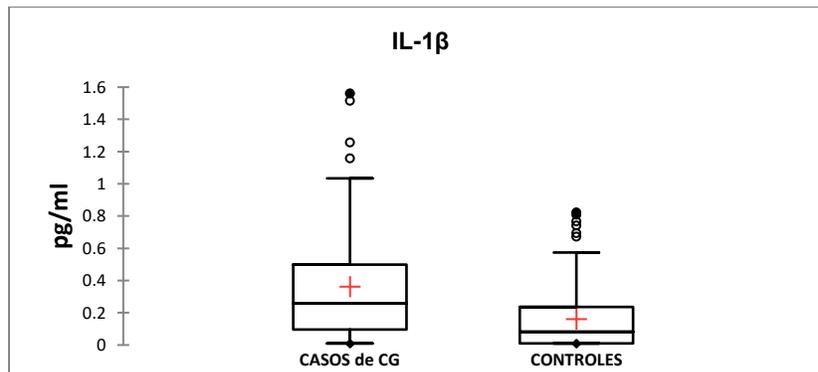


Fuente: análisis estadístico de la investigación

Figura 5: Describe gráficamente los valores en pg/ml de la citocina pro inflamatoria: IL-1 β en los casos de CG y se hace una comparación con los valores plasmáticos de la misma cuantificados en los controles sanos, se observa la diferencia en ambos. El análisis estadístico entre ambos muestra que la diferencia es significativa, $p < 0.0001$.

Figura 5

Comparación de los niveles en pg/ml de IL-1 β entre los casos y controles analizados

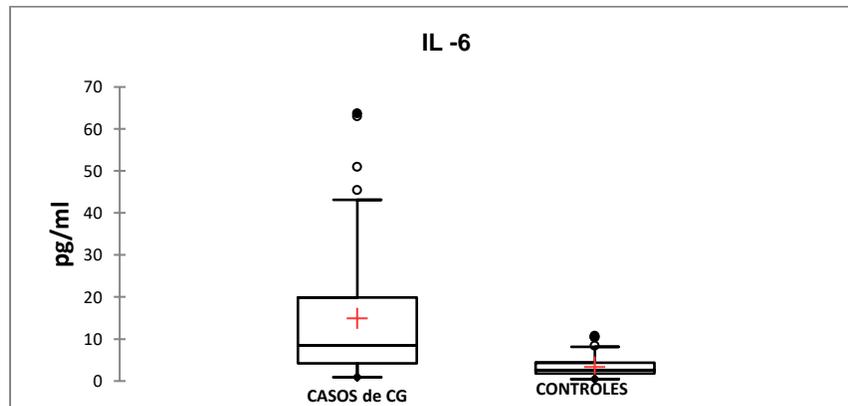


Fuente: análisis estadístico de la investigación

Figura 6: Describe gráficamente los valores en pg/ml de la citocina pro inflamatoria: IL-6, en los casos de CG y se hace una comparación con los valores plasmáticos cuantificados en los controles sanos, se observa la diferencia en ambos. El análisis estadístico entre ambos muestra que la diferencia es significativa, $p < 0.0001$.

Figura 6

Comparación de los niveles en pg/ml de IL-6 entre los casos y controles analizados

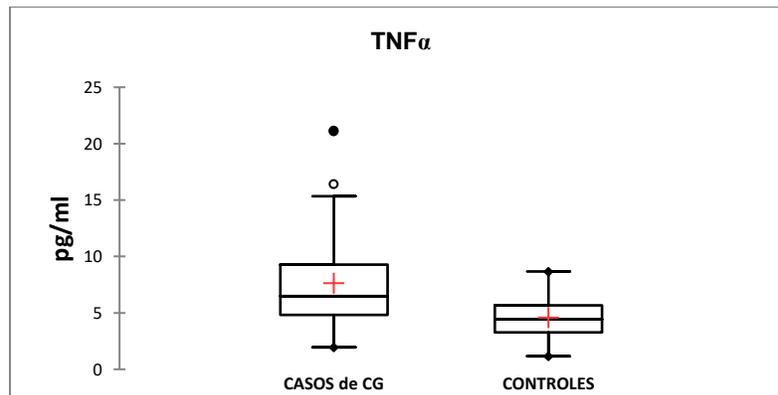


Fuente: análisis estadístico de la investigación

Figura 7: Describe gráficamente los valores en pg/ml de la citocina pro inflamatoria $TNF\alpha$, en los casos de CG y se hace una comparación con los valores plasmáticos cuantificados en los controles sanos, se observa, la diferencias en ambos. El análisis estadístico entre ambos muestra que la diferencia es significativa, $p < 0.0001$

Figura 7

Comparación de los niveles en pg/ml de $TNF\alpha$ entre los casos y controles analizados



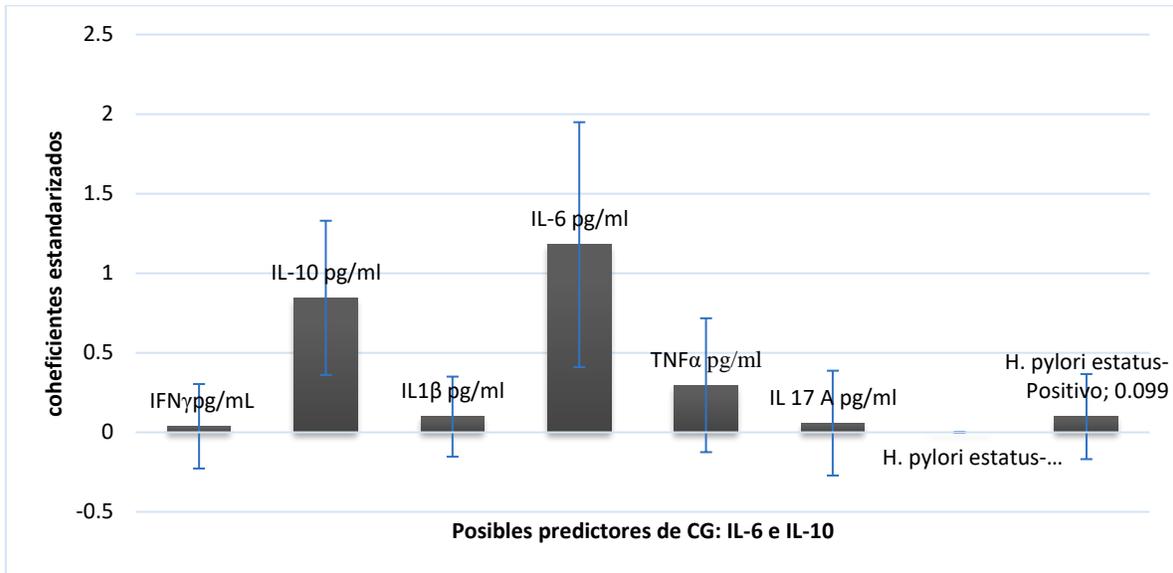
Fuente: análisis estadístico de la investigación

Figura 8. demuestra la asociación encontrada por regresión logística entre los niveles de citocinas de Th1: $IFN\gamma$, de Th2: IL-10, de Th17: IL17 A y otras citocinas pro inflamatorias IL1 β , $TNF\alpha$ en los casos de CG tomando como variables cuantitativas y la infección por *H. pylori* como variable categórica. Se observa que la presencia de *H. pylori* no se asoció significativamente a la presencia de CG, OR = 1.601, IC 95 % (0.59 a 4.344) $p = 0.355$, que la citocina de Th2: IL-10 y la citocina pro inflamatoria IL-6 están asociadas significativamente a CG. OR 6.5135, IC95 % (2.2,16.7742) $p < 0.0001$ y OR 1.2858, IC95 % (1.0926 -1.5131) $p < 0.0001$ respectivamente. La IL-4 no fue estudiada por presentar valores muy bajos respecto a las otras citocinas estudiadas.

Figura 8: Demuestra la asociación entre los niveles de citocinas de Th1, Th2, Th17 y otras citocinas pro inflamatorias y cáncer gástrico por estatus de infección por *H. pylori*

Figura 8

Asociación entre los niveles de citocinas de Th1, Th2, Th17 y otras citocinas pro inflamatorias y cáncer gástrico en los casos por status de infección por *H. pylori* coeficientes estandarizados IC (95%)

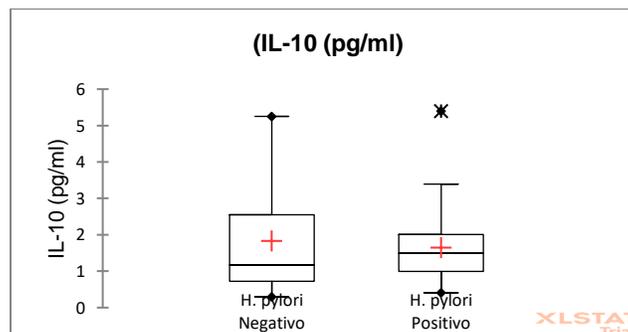


Fuente: análisis estadístico de la investigación

Figura 9: Describe la relación entre positividad para anticuerpos anti *H. pylori*, con los niveles de IL-10 (citocina Th2) estimuladora de las células B, encontrando que no existe una diferencia significativa entre ambos grupos, con un valor de $p=0.774$

Figura 9

Comparación entre los niveles de IL-10 y anticuerpos anti *H. pylori* en pacientes con CG

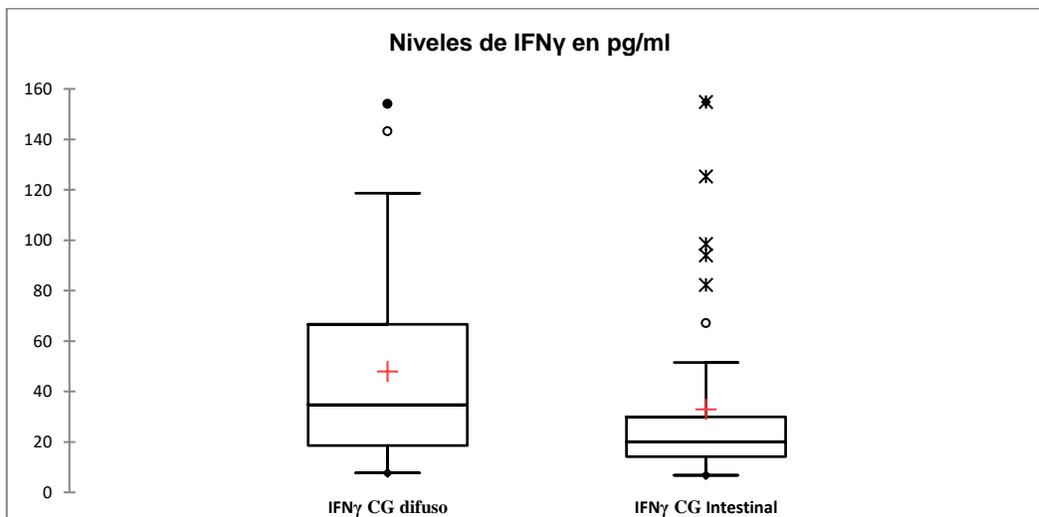


Fuente: análisis estadístico de la investigación

Figura 10: Describe la relación entre los niveles de la citocina de Th1: IFN γ en los dos tipos de CG según la clasificación de Luren, intestinal y difuso, esta citocina fue la única de las citocinas estudiadas, que mostró diferencias significativas ($p=0.016$) relacionándose a CG tipo difuso, valores cuantificados en pg/ml.

Figura 10

Comparación de los Niveles de IFN γ entre los casos de CG tipo difuso e intestinal (clasificación del Lauren)

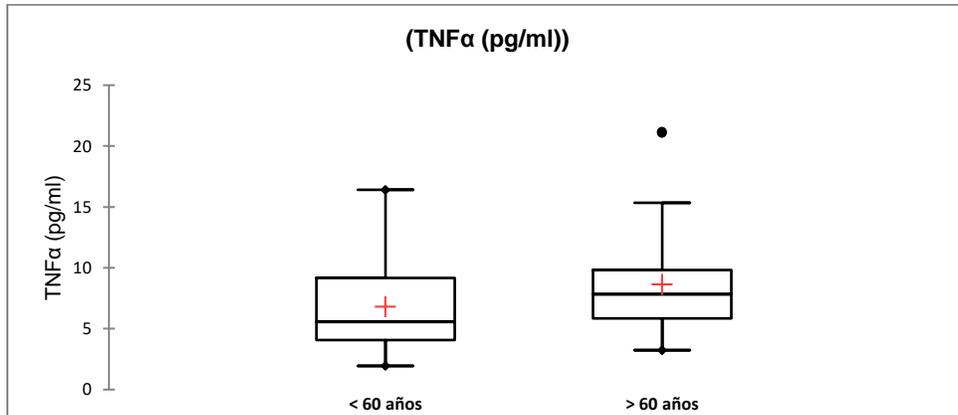


Fuente: análisis estadístico de la investigación

Figura 11: Describe la diferencia significativa entre los niveles plasmáticos de la citocina pro inflamatoria TNF α en los casos de CG agrupados por edad: menores de 60 años y adultos mayores, valor de $p= 0.023$.

Figura 11

Niveles plasmáticos de TNF α en pacientes con CG en dos grupos de edad

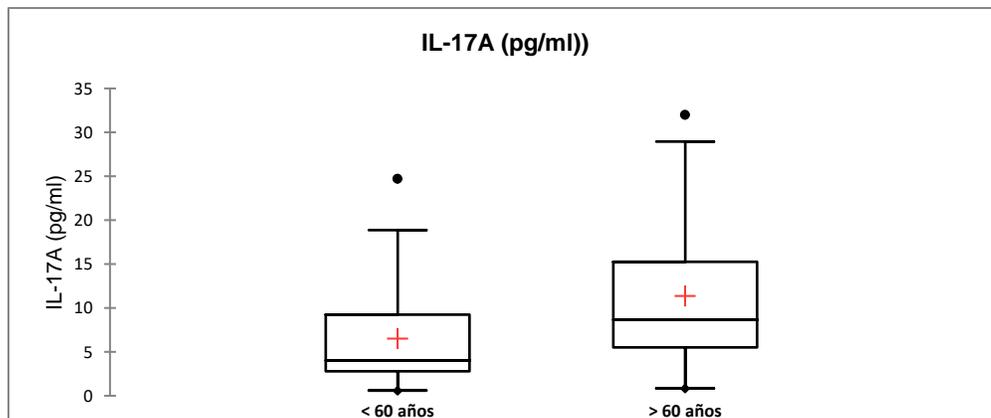


Fuente: análisis estadístico de la investigación

Figura 12: Describe la diferencia significativa entre los niveles plasmáticos de la citocina pro inflamatoria de Th17: IL17A en los casos de CG agrupados por edad: menores de 60 años y adultos mayores, valor de $p= 0.003$.

Figura 12

Niveles plasmáticos de IL 17 A en pacientes con CG en dos grupos de edad

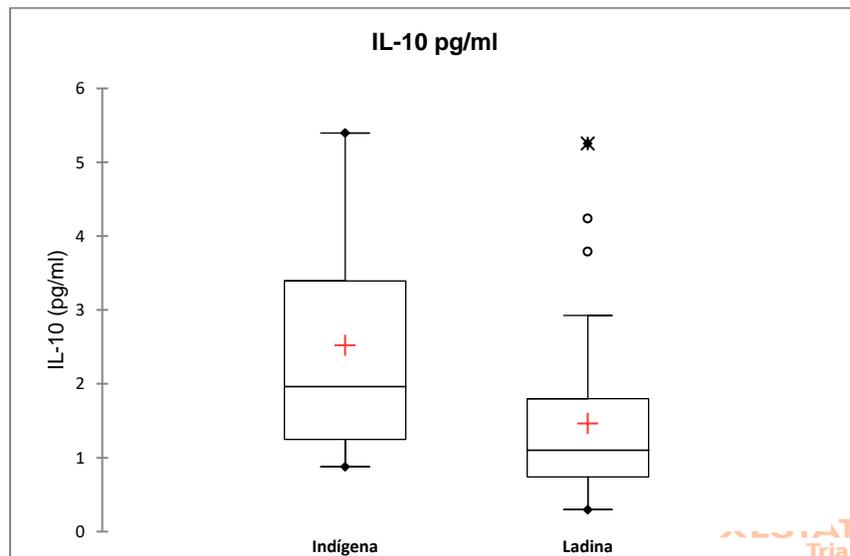


Fuente: análisis estadístico de la investigación

La figura 13: Describe la diferencia significativa entre los niveles plasmáticos de la citocina IL-10 en los casos de CG agrupados por etnia, evidenciando niveles elevados de IL-10 en el grupo étnico indígena. Valor de $p=0.0007$.

Figura 13

Niveles plasmáticos de IL-10 en los casos de CG, agrupados por grupo étnico: indígenas y ladinos



Fuente: análisis estadístico de la investigación

V. DISCUSIÓN

Para caracterizar el perfil de citocinas plasmáticas en pacientes con CG, se analizaron los niveles de siete citocinas reconocidas por su acción inmune en las respuestas Th1, Th2, Th 17 y un grupo de citocinas proinflamatorias producidas por otros tipos celulares: IL-1 β , IL-6, TNF α , en muestras plasmáticas de 202 sujetos, 70 pacientes con diagnóstico de CG y 132 controles sanos. De los 70 casos de CG, estos en su mayoría de pacientes que tenían lesiones cancerosas clasificadas según Borrmann, como lesiones tipo III con bordes ulcerativos uniformes, es conocido el mal pronóstico y la sobrevida menor a 5 años (Zhai *et al.*, 2020), esto indica que los casos en su mayoría estaban en un estado avanzado de la enfermedad. Microscópicamente según la clasificación de Lauren en su mayoría eran tipo intestinal pero un importante número era tipo difuso, el tipo intestinal ha sido descrito como el más frecuentemente diagnosticado (Catalano *et al.*, 2009). La localización anatómica del tumor fue principalmente en el cuerpo y en el antro gástrico esta localización a diferencia de las regiones más proximales del órgano, presentan diferencias importantes en su etiología y epidemiología, asociándose el cáncer no cardial a infección por *H. pylori* (Hansen *et al.*, 2007).

El estadio clínico TNM en la mayoría de casos fue estadio II, lo que demuestra que ya no era un tumor localizado, sino que ya presentaba al menos ganglios linfáticos afectados. La edad promedio de los casos fue de 59.5 años, para los estadios I y II fue de 60.9 años y para los estadios más avanzados III y IV de 55.8 años. Respecto al grupo étnico, se encontró que la mayoría eran ladinos 71% y 24 % indígenas.

Los niveles plasmáticos de los casos de CG fueron comparados con los niveles de las mismas citocinas con un grupo control de 132 sujetos aparentemente sanos, sin antecedentes de enfermedad cancerosa, que eran equiparables en edad y sexo.

Diferentes publicaciones han estudiado los altos niveles de citocinas asociadas al proceso inflamatorio gástrico crónico que se produce en el desarrollo del CG, los esfuerzos de investigación se han orientado a búsqueda e identificación de biomarcadores plasmáticos que contribuyan al diagnóstico temprano de lesiones gástricas malignas (Sánchez-Sauco *et al.*, 2017) (Zou *et al.*, 2018). El presente estudio describe los niveles de las citocinas IFN γ ,

IL-4, IL-10, IL-17A y otras citocinas pro inflamatorias producidas por distintos tipos celulares (IL-1 β , IL-6, TNF α) tanto en casos diagnosticados con CG como en un grupo control, y realiza una asociación con las citocinas potencialmente predictoras de lesión gástrica maligna.

Se encontraron valores plasmáticos de las siete citocinas estudiadas, significativamente elevados en los casos de CG, comparados con el grupo control. Otros investigadores han descrito la relevancia de la elevación de los niveles de estas citocinas en el desarrollo de CG asociándola a la infección por *H.pylori* (Sánchez- Sauco *et al.*, 2017) aunque también se ha reportado dicha asociación en casos de CG sin infección por *H. pylori* (Zou *et al.*, 2018). El presente estudio encontró significativamente elevados los niveles de las siete citocinas analizadas en todos los casos de CG en comparación al grupo control, aunque no en asociación significativa a infección por *H. pylori* lo cual difiere a lo descrito previamente por algunos autores, sin embargo, se deben considerar la diversidad de factores que inciden en el desarrollo del CG, siendo los más relevantes, la virulencia de las cepas de *H. pylori* y la producción de toxinas CagA, la carga genética de hospedero y factores epigenéticos.

Respecto a los niveles elevados de la citocina de Th1 (IFN γ) encontrados en los casos de CG, comparado al grupo control, podría indicar el proceso proinflamatorio que se produce en el desarrollo de CG. Estudios previos lo han descrito como un mediador pro inflamatorio en el microambiente tumoral (Landskron *et al.*, 2014). Se ha descrito también, como una citocina potencialmente útil con fines de detección temprana de CG (Sánchez-Sauco *et al.*, 2017). Se ha identificado recientemente como inductor de PD-L1 en la inmunopatogenia del CG (Imai *et al.*, 2020).

Un hallazgo relevante en la presente investigación es que cuando se analizó el tipo de CG según la clasificación de Lauren, relacionándolo con los niveles plasmáticos de citocinas, únicamente los niveles de IFN γ se encontraron significativamente elevados en los casos de cáncer gástrico de tipo difuso, sugiriendo un mayor proceso inflamatorio, mediado por linfocitos Th1 en los pacientes que tenían este tipo de lesión gástrica que es de mayor malignidad que el CG tipo intestinal. Previamente otros autores han descrito niveles elevados de esta citocina en todos los casos de CG (Sánchez-Zauco *et al.*, 2017). Sin embargo, otros

autores han sugerido una mayor activación de linfocitos Th1 en los casos de este tipo de CG (van den Engel *et al.*, 2006).

Los niveles elevados de IL-4, en los pacientes con CG respecto al grupo control aunque no asociados significativamente a CG, es acorde con lo descrito previamente, esta citocina se ha encontrado elevada en otros estudios en todos los tipos de CG, aunque también en cáncer colorrectal, especialmente cuando se cuantifica localmente en el microambiente tumoral, relacionándolo a pacientes con CG que presentan una elevada tasa de mortalidad y diseminación de las lesiones primarias. Se ha descrito también que los niveles plasmáticos de esta citocina correlacionan con los niveles detectados en el área cercana al tumor (Bednarz-Misa *et al.*, 2020). Otros estudios, relacionan los polimorfismos de IL-4 con una elevación significativa de los niveles séricos (Cárdenas *et al.*, 2018).

Respecto a las concentraciones plasmáticas elevadas de IL-10 en los casos de CG comparándolos con el grupo control y la significativa asociación de la elevación de esta citocina en los casos de CG, ha sido descrita previamente por varios autores, postulando la utilidad diagnóstica (Sánchez-Sauco *et al.*, 2017). La elevación de IL-10, además de haber sido descrita como biomarcador útil en el diagnóstico de adenocarcinoma gástrico, se ha asociado a la progresión de CG, sin embargo, se ha sugerido realizar estudios con un número mayor de pacientes y realizar comparaciones con grupo control que tengan edad similar edad, (Shokrzadeh *et al.*, 2018). Además, es conocido que la IL-10 se eleva en estados avanzados de CG, conduciendo a la incapacidad de eliminar células malignas (Szkardkiewicz *et al.*, 2018). Las células malignas pueden secretar IL-10, por lo que es una de las citocinas señaladas con utilidad diagnóstica. Adicionalmente la IL-10 se encontró elevada en los casos de CG que correspondieron al grupo étnico indígena. Esto se podría explicar por los polimorfismos que pueden presentarse en grupos poblacionales diversos. Previamente se han descrito polimorfismos de IL-10 asociados a CG (Kulmambetova *et al.*, 2020). Por otro lado, los polimorfismos de la IL-1 β se han asociado también con la mayor susceptibilidad a padecer CG en población costarricense reconociéndose la necesidad de efectuar más estudios que contribuyan a caracterizar estas variaciones (Alpizar-Alpizar *et al.*, 2005). Adicionalmente, también en población china se han encontrado polimorfismos de IL-1 β asociados a CG (Zhang *et al.*, 2005).

Los niveles plasmáticos de IL-17A se encontraron elevados en los pacientes con CG respecto al grupo control, sin encontrar asociación significativa con CG. Al analizar los niveles plasmáticos de IL-17A en los casos de CG divididos en dos grupos de edad, se encontró que se encuentran significativamente elevados en los adultos mayores de 60 años. Esta citocina pro inflamatoria ha sido estudiada en su relación con cáncer gástrico, encontrándose en un reciente metaanálisis que los efectos generales de dos polimorfismos se asociaron significativamente con la susceptibilidad al CG. En el análisis de etnicidad, estos dos polimorfismos se asociaron con poblaciones asiáticas, pero no con caucásicos (Jie-Fang *et al.*, 2019).

De las otras citocinas estudiadas, producidas por diferentes tipos celulares, como la IL-1 β , también demostró niveles plasmáticos elevados en los casos de CG. Esta citocina pro inflamatoria se ha descrito tanto en modelos animales como en humanos, se puede encontrar elevada en pacientes con CG (Sánchez -Sauco *et al.*, 2017) especialmente cuando el paciente tiene infección por *H. pylori* (Hitzler *et al.*, 2012).

En el presente estudio se evidenció la elevación de IL-6 y su fuerte asociación con los casos de CG, lo que ha sido también descrito previamente por otros autores, incluso, se ha asociado a la diseminación o metástasis de una lesión primaria (Ashizawa *et al.*, 2005). Adicionalmente se ha descrito que la IL-6 es una citocina multifuncional que regula positivamente la metilación de DNA, lo que se asocia a carcinogénesis (Foran *et al.*, 2010) por lo que los niveles elevados en los casos de CG en este estudio, son consistentes con lo previamente descrito.

Los altos niveles de TNF α encontrados en los casos de CG respecto al grupo control, aunque no asociados directamente a CG, concuerda con lo descrito previamente, siendo una citocina pro inflamatoria que se ha encontrado elevada en los casos de CG, aunque estadísticamente no significativa (Epplein *et al.*, 2013). Recientemente se ha descrito que TNF α tiene funciones en la inmunopatogenia del cáncer gástrico por medio de la inducción de PDL-1. Al igual que otras citocinas como IL-6, ha sido identificado como inductor inmunológico involucrado en el desarrollo de CG (Ju *et al.*, 2020). El presente estudio, describe el TNF α específicamente elevado en los adultos mayores de 60 años con diagnóstico de CG. En adultos mayores se ha descrito que en el envejecimiento disminuye la expresión

del receptor de IL-2, hay pérdida de los linfocitos T naive, lo que también favorece la disminución de IL-2. En el adulto mayor se ha observado un estado inflamatorio crónico, causado por un incremento en los niveles de IL-6 y TNF lo que favorece la apoptosis de linfocitos CD4 y CD8. Lo encontrado en el presente estudio está acorde a lo reportado previamente (Saavedra & García, 2014).

Se encontró por regresión logística, una asociación como moléculas predictoras de CG a IL-6 y a IL-10, IL-6 tiene una acción multifuncional, lo que ha sido descrito por varios autores (Lindholm *et al.*, 1998), (Amieva & Peek, 2016), (Landskron *et al.*, 2014) (Sánchez-Saucó *et al.*, 2017). Por otro lado, IL-10 tiene función principalmente antiinflamatoria, es producida principalmente por células Th2, está descrito en la literatura los altos niveles de esta citocina están asociados a CG especialmente algunos polimorfismos (Alpizar-Alpizar *et al.*, 2020). La literatura revisada se enfoca en estudios con grupos seleccionados de citocinas y se han establecido asociaciones que han contribuido al mejor entendimiento de la inmunopatología del CG, sin embargo hay factores del hospedero como factores étnicos, los que determinan la presencia de polimorfismos genéticos en las citocinas que aumentan la susceptibilidad al desarrollo de CG, adicionalmente, la variación geográfica de la prevalencia de las distintas cepas de *H. pylori* de mayor o menor virulencia y su interacción con el sistema inmune del hospedero.

Los métodos de detección temprana de CG han sido considerados una necesidad preponderante para mejorar el manejo clínico de los casos. Internacionalmente, la investigación se inclina a la búsqueda de biomarcadores que contribuyan a su detección con el propósito de mejorar su manejo. Se han estudiado los niveles de pepsinógenos (Zhou *et al.*, 2020), la proteína suPAR (Fernández-Botrán *et al.*, 2020), la detección de RNA metilado (Abbasi & Heydari, 2018) y la detección y cuantificación de citocinas, la cual es prominente en el microambiente tumoral. Estudios recientes han identificado que las citocinas pueden ser detectadas a nivel plasmático siendo representativas de los niveles encontrados en el microambiente tumoral, tanto en pacientes con lesiones gástricas pre malignas como malignas. La determinación sérica IL-6 e IL-10 ha sido estudiada, identificándose estas citocinas como biomarcadores plasmáticos útiles en la identificación de casos de CG (Landskron *et al.*, 2014). La presente investigación concuerda con lo publicado previamente

al identificar asociación entre las citocinas IL-6 e IL-10 en los casos de CG, independientemente de la infección por *H. pylori*.

V. CONCLUSIÓN

Como conclusión general podemos afirmar que, en el grupo de pacientes con CG estudiados, se presentaban altos niveles de citocinas de todos los grupos celulares; de Th1 (IFN γ), de Th2 (IL-4 IL-10), de Th17, (IL-17A) y de un grupo de citocinas pro inflamatorias producidas por diversos tipos celulares: IL-1 β , IL-6 y TNF α , comparado dichos niveles con el grupo control, equiparable en edad y sexo y libres de enfermedad maligna. A pesar de ello, únicamente dos citocinas se encontraron ser posibles predictores de CG, la IL-6 y la IL-10.

Encontramos que el tipo microscópico de CG, según la clasificación de Luren, se encuentra significativamente asociado a niveles elevados de IFN γ , lo que podría ser de utilidad para la clasificación inicial de este tipo de CG. Se encontró que existe relación entre los niveles elevados de TNF α e IL-17-A en los pacientes con CG mayores de 60 años. Así mismo al analizar el grupo étnico de los casos de, se encontró que la etnia indígena posee valores significativamente elevados de IL-10.

Los hallazgos en el presente estudio, se inclinan a que el perfil inmunológico en los pacientes con CG del grupo estudiado es Th2, provocando un estado inmunomodulador al paciente.

La utilidad del estudio del perfil inmunológico en los pacientes con CG, destacan a IL-6 e IL-10 como posibles predictores de CG.

VII. RECOMENDACIONES:

1. Es necesario realizar estudios que comparen los niveles plasmáticos de citocinas en pacientes que padezcan distintos grados de desarrollo de una lesión maligna: atrofia, metaplasia y displasia, para identificar la evolución de los niveles de citocinas en las etapas de desarrollo de CG y poder identificar las posibles citocinas predictoras del paso de una lesión pre maligna a maligna.
2. Para la identificación de biomarcadores útiles en la detección de lesiones malignas a nivel gástrico, es de importancia realizar el análisis de la combinación de los niveles de citocinas plasmáticas unido a los niveles de proteínas descritas previamente como indicadores de CG como lo es la proteína la uPAR, realizando una interpretación conjunta de dichos marcadores en la práctica clínica.
3. Se recomienda realizar estudios genéticos de polimorfismos de citocinas que pueden ser factores del hospedero que contribuyen al desarrollo de CG, especialmente en el grupo étnico indígena.
4. Es recomendable realizar estudios genéticos de las variaciones de virulencia de las cepas de *H. pylori*.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abbasi, A., & Heydari, S. (2018). Studying the expression rate and methylation of Reprimo gene in the blood of patients suffering from gastric cancer. *European journal of translational myology*, 28(2), 7423. <https://doi.org/10.4081/ejtm.2018.7423>
- Alpizar-Alpizar, W., Pérez-Pérez, G.I., Une, C. P. Cuenca & R. Sierra. (2005) Association of interleukin-1B and interleukin-1RN polymorphisms with gastric cancer in a high-risk population of Costa Rica. *Clinical Experimental Medicine*. (5)169–176 (2005). <https://doi.org/10.1007/s10238-005-0082-3>
- Alpizar-Alpizar W., Une C., & Sierra R. (2009). La inflamación y su papel en el desarrollo del cáncer gástrico. *Acta Médica Costarricense*, 51(2), 76-81.
- Amieva, M. & Peek, R. (2016) Pathobiology of *Helicobacter pylori*-Induced Gastric Cancer. *Gastroenterology*. 150, (1) 64–78. doi: 10.1053/j.gastro.2015.09.004.
- Ashizawa, T., Okada, R., Suzuki, Y., Takagi, M., Yamazaki, T., Sumi, T., Oki, T., Ohnuma, S. & Aoki, T. (2005). Clinical significance of interleukin-6 (IL-6) in the spread of gastric cancer: role of IL-6 as a prognostic factor. *Gastric Cancer* 8,124–131. <https://doi.org/10.1007/s10120-005-0315-x>.
- Backert, S. & Blaser, M. (2016) The Role of CagA in the Gastric Biology of *Helicobacter pylori*. *Cancer Research*. 7 (14) 4028-4032. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-16-1680
- Bertuccio, P., Chatenoud, L., Levi, F., Praud, D., Ferlay, J., Negri, E., Malvezzi, M., & Vecchia, C. (2009). Recent patterns in gastric cancer: a global overview. *International Journal of Cancer*, 125(3), 666-673.
- Bednarz-Misa, I., Diakowska, D., Szczuka, I., Fortuna, P., Kubiak, A., Rosińczuk, J., & Krzystek-Korpacka, M. (2020). Interleukins 4 and 13 and their receptors are differently expressed in gastrointestinal tract cancers, depending on the anatomical site and disease advancement, and improve colon cancer cell viability and motility. *Cancers*, 12(6), 1463. <https://doi.org/10.3390/cancers12061463> .
- Cárdenas, D.M., Sánchez, A.C., Rosas, D.A., Rivero, E., Papanoni, M.D., Cruz, M.A., Suárez, Y.P., Galvis, N.F., (2018). Preliminary analysis of single-nucleotide

polymorphisms in IL-10, IL-4, and IL-4R α genes and profile of circulating cytokines in patients with gastric Cancer. *BMC Gastroenterol.* 18, 184 DOI: <https://doi.org/10.1186/s12876-018-0913-9>

Catalano, V., Labianca, R., Beretta, G.D., Gatta, G., de Braud, F., & Van Cutsem, E. (2005). Gastric cancer. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 54, 209-241

Catalano, V., Labianca, R., Beretta, G. D., Gatta, G., Braud, F., & Cutsem, E. (2009). Gastric cancer. *Critical Review in Oncology / Hematology*, 71, 127–164. <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2009.01.004>

Correa, P. & Houghton, J. M. (2007). Carcinogenesis of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology*, 133(2), 659–672. doi: [org/10.1053/j.gastro.2007.06.026](https://doi.org/10.1053/j.gastro.2007.06.026).

Cover, T. & Blanke, S. (2005). *Helicobacter pylori* VacA, a paradigm for toxin multifunctionality. *Nature Reviews Microbiology*, 3, 320-332. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1095>.

Cover, T. (2016). *Helicobacter pylori* diversity and gastric cancer risk. *American Society of Microbiology*, 7, (1), 1–9. <https://doi.org/10.1128/mBio.01869-15>.

Cho, Y. A., & Kim, J. (2017). Association of IL4, IL13, and IL4R polymorphisms with gastrointestinal cancer risk: A meta-analysis. *Journal of epidemiology*, 27(5), 215–220. <https://doi.org/10.1016/j.je.2016.06.002>

Dixon, M., Genta, R., Yardley, J., Correa, P. (1996) Classification and grading of gastritis. The updated Sydney System. International Workshop on the Histopathology of Gastritis, Houston 1994. *American Journal of Surgery and Pathology* 10,1161–81 <https://doi.org/10.1097/00000478-199610000-00001>.

El-Omar, E.M., Carrington, M., Chow, W.H., McColl, K.E., Bream, H.J., Young, H.A., Herrera, J., Lissowska, J. Youan, Ch., Rothman, N., Lanyon, G., Martin, M., Fraulmeni Jr, J & Rabkin, C.S. (2000). Interleukin-1 polymorphisms associated with increased risk of gastric cancer. *Nature*, 404(6842), 398-402. <https://doi.org/10.1038/35006081>

- Epplein, M., Xiang, Y. B., Cai, Q., Peek Jr, R., Li, H., Correa, P., Gao, J., Wu, J., Michel, A., Pawlita, M., Zheng, W., & Shu, X. O. (2013). Circulating cytokines and gastric cancer risk. *Cancer causes & control*, 24(12), 2245–2250. <https://doi.org/10.1007/s10552-013-0284-z>
- Ferlay, J., Soerjomataram, I., Dikshit, R., Eser, S., Mathers, C., Rebelo, M., & Bray, F. (2015). Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *International Journal of Cancer*, 136(5) E359–E386. doi: 10.1002/ijc.29210
- Ferlay, J., Colombet, M., Bray, F., (2018) Incidencia de cáncer en cinco continentes, CI5 plus: IARC *Cancer Base No.9, Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer*, <http://ci5.iarc.fr>
- Fernández-Bostrán, R., Wellmann, I. A., Une, C., Méndez-Chacón, E., Hernández de Rodas, E., Bhandari, B., & Villagrán de Tercero, C. I. (2020). Seroprevalence of Helicobacter pylori/CagA antibodies in Guatemalan gastric cancer patients: Association of seropositivity with increased plasma levels of pepsinogens but not soluble Urokinase Plasminogen Activator Receptor. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 103(1), 260–265. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.19-0934>
- Foran, E., Garrity-Park, M. M., Mureau, C., Newell, J., Smyrk, T. C., Limburg, P. J., & Egan, L. J. (2010). Upregulation of DNA methyltransferase-mediated gene silencing, anchorage-independent growth, and migration of colon cancer cells by interleukin-6. *Molecular Cancer Research: MCR*, 8(4), 471–481. <https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-09-0496>
- Gómez, M., Riveros, J., Ruiz, O., Concha, A., Betancur, D., Torres, M., Pardo, R., Otero R., W., & Sabbagh, L. (2015). Guía de práctica clínica para la prevención, diagnóstico y tratamiento del cáncer gástrico temprano - 2015. *Revista Colombiana de Gastroenterología*, 30 (1), 34-42.
- Hansen, S., Vollset, S.E., Derakhshan, M.H., Fyfe, V., Melby, K.K., Aase, S., Jellum, E., & McColl, K.E. (2007). Two distinct aetiologies of cardia cancer; evidence from premorbid serological markers of gastric atrophy and Helicobacter pylori status. *Gut*,

56, 918-925.

Herrera-Goepfer, R., Zúñiga, J., Hernández-Guerrero, A., Rodríguez-Reyna, T., Osnalla, N., Ruíz-Morales, J., Vargas-Alarcón, G., Yamamoto-Furusho, J., Mohar- Betancourt, A., Hernández-Pando, R., & Granados, J., (2004). Asociación del alelo HLA-DQB1*0501 del complejo mayor de histocompatibilidad con cáncer gástrico en México. *Gaceta médica de México*,140(3), 299-303.

Hitzler, I., Sayi, A., Kohler, E., Engler, D. B., Koch, K. N., Hardt, W. D., & Müller, A. (2012). Caspase-1 has both proinflammatory and regulatory properties in Helicobacter infections, which are differentially mediated by its substrates IL-1 β and IL-18. *The Journal of immunology*, 188(8), 3594–3602. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1103212>

Imai, Y., Chiba, T., Kondo, T., Kanzaki, H., Kanayama, K., Ao, J., Kojima, R., Kusakabe, Y., Nakamura, M., Saito, T., Nakagawa, R., Suzuki, E., Nakamoto, S., Muroyama, R., Tawada, A., Matsumura, T., Nakagawa, T., Kato, J., Kotani, A., Matsubara, H., Kato, N. (2020). Interferon- γ induced PD-L1 expression and soluble PD-L1 production in gastric cancer. *Oncology letters*,20(3), 2161–2168. <https://doi.org/10.3892/ol.2020.11757>

Jie-Fang Gao, Hong Zhang, Jian Lv, Li Wang, Yue-Ying Fan, (2019) Associations of the IL-17A rs2275913 and IL-17F rs763780 polymorphisms with the risk of digestive system neoplasms: A meta-analysis, *International Immunopharmacology*, 67, 248-259, <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2018.12.016>.

Ju, X., Zhang, H., Zhou, Z., Chen, M., & Wang, Q. (2020). Tumor-associated macrophages induce PD-L1 expression in gastric cancer cells through IL-6 and TNF- α signaling. *Experimental cell research*, 396(2), 112315. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2020.112315>

Kao, J. Y., Rathinavelu, S., Eaton, K. A., Bai, L., Zavros, Y., Takami, M., Pierzchala, A., & Merchant, J. L. (2006). Helicobacter pylori-secreted factors inhibit dendritic cell IL-12 secretion: a mechanism of ineffective host defense. *American journal of physiology. Gastrointestinal and liver physiology*, 291(1), G73–G81.

<https://doi.org/10.1152/ajpgi.00139.2005>

- Karabulut, M., Usul Afsar, C., Serimez, M., & Karabulut, S. (2019). Serum IL-17 levels can be diagnostic for gastric cancer. *Journal of B.U.ON.: Official Journal of the Balkan Union of Oncology*, 24(4), 1601–1609.
- Kulmambetova, G., Shtefanov, I., Aitkulova, A., Imanbekova, M., Iskakova, A., Makishev, A., & Ramankulov, Y. (2020). Association of polymorphisms in TP53 and the promoter region of IL10 with gastric cancer in a Kazakh population. *Bosnian Journal of Basic Medical Sciences*, 20(4), 539–546. <https://doi.org/10.17305/bjbms.2020.4761>
- Landskron, G., De la Fuente, M., Thuwajit, P., Thuwajit, C., & Hermoso, M. A. (2014). Chronic inflammation and cytokines in the tumor microenvironment. *Journal of Immunology Research*, 2014, 19149185. <https://doi.org/10.1155/2014/149185>
- Lindholm, C., Quiding-Järbrink, M., Lönroth, H., Hamlet, A., & Svennerholm, A. M. (1998). Local cytokine response in *Helicobacter pylori*-infected subjects. *Infection and Immunity*, 66(12), 5964-5971.
- Long, Z., Yu, H., Wang, Y., Liu, D., Chen, Y., Zhao, Y., ... Liu, D. (2015). Association of IL-17 polymorphisms with gastric cancer risk in Asian populations, *World Journal of Gastroenterology* 21(18), 5707–5718. doi.10.3748/wjg. v21.i18.5707
- McColl, K.E. (2006). Cancer of the gastric cardia. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, 20, 687-696. <https://doi.org/10.1016/j.bpg.2006.03.005>.
- Nagini, S. (2012). Carcinoma of the stomach: A review of epidemiology, pathogenesis, molecular genetics and chemoprevention. *World Journal of Gastrointestinal Oncology*, 4 (7), 156-169. <https://doi.org/10.4251/wjgo.v4.i7.156>
- Naumann, M., Sokolova, O., Tegtmeyer, N., & Backert, S. (2017). *Helicobacter pylori*: A paradigm pathogen for subverting host cell signal transmission. *Trends in Microbiology*, 25, 316-328.
- Negovan, A., Iancu M., Fülöp, E., & Bănescu, C. (2019). *Helicobacter pylori* and cytokine gene variants as predictors of premalignant gastric lesions. *World Journal*

Gastroenterology, 25(30) 4105-4124. <https://doi.org/10.3748/wjg.v25.i30.4105>.

Ohnishi, N., Yuasa, H., Tanaka, S., Sawa, H., Miura, M., Matsui, A., Higashi, H., Musashi, M., Iwabuchi, K., Suzuki, M., Yamada, G., Azuma, T., & Hatakeyama, M. (2008). Transgenic expression of *Helicobacter pylori* CagA induces gastrointestinal and hematopoietic neoplasms in mouse. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(3), 1003–1008. <https://doi.org/10.1073/pnas.0711183105>

Parsonnet J., Friedman, G.D., Vandersteen, D.P., Chang, Y., Vogelman, J.H., Orentreich N., Sibley, R.K. (1991) *Helicobacter pylori* infection and the risk of gastric carcinoma. *The New England Journal of Medicine*, 325(16):1127-31. doi:10.1056/NEJM199110173251603

Pasechnikov, V., Chukov, S., Fedorov, E., Kikuste, I., & Leja, M. (2014). Gastric cancer: Prevention, screening and early diagnosis, *World Journal of Gastroenterology*. 20(38), 13842–13862. doi.org/10.3748/wjg.v20.i38.13842

Peek, R.M., Fiske, and C., & Wilson, K.T. (2010). Role of innate immunity in *Helicobacter pylori*-induced gastric malignancy. *Physiological Reviews*, 90(3), 831-858. doi:10.1152/physrev.00039.2009

Peláez, A. (1996). Historia de los grupos étnicos en Guatemala. Informe final de investigación, Dirección General de Investigación de la Universidad de San Carlos de Guatemala -DIGI- 1-175. <https://digi.usac.edu.gt/bvirtual/informes/puihg/INF-1996-018.pdf>.

Petrovich, I., & Ford, J.M. (2016). Genetic predisposition to gastric cancer. *Seminars in Oncology*, 43, 554-559. <https://doi.org/10.1053/j.seminoncol.2016.08.006>.

Piazuelo, M. B., & Correa, P. (2013). Gastric cancer: Overview. *Colombia medica*, 44(3), 192–201.

Polk, D.B., & Peek, R.M., Jr. (2010). *Helicobacter pylori*: gastric cancer and beyond. *Nature Reviews Cancer*, 10, 403-414. doi: 10.1038/nrc2857.

- Rugge, M., Correa, P., Di Mario, F., El-Omar, E., Fiocca, R., Geboes, K., Genta, R. M., Graham, D. Y., Hattori, T., Malfertheiner, P., Nakajima, S., Sipponen, P., Sung, J., Weinstein, W., & Vieth, M. (2008). OLGA staging for gastritis: a tutorial. *Digestive and liver disease: Official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver*, 40(8), 650–658. <https://doi.org/10.1016/j.dld.2008.02.030>
- Saavedra, H., & García Verdecia, B. (2014). Inmunosenescencia: efectos de la edad sobre el sistema inmune. *Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia*, 30(4), 332-345. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892014000400005&lng=es&tlng=es.
- Sánchez-Zauco, N., Torres, J., Gómez, A., Camorlinga-Ponce, M., Muñoz-Pérez, L., Herrera-Goepfert, R., Medrano-Guzmán, R., Giono-Cerezo, S., & Maldonado-Bernal, C. (2017). Circulating blood levels of IL-6, IFN- γ , and IL-10 as potential diagnostic biomarkers in gastric cancer: a controlled study. *BMC Cancer*, 17(1), 669. <https://doi.org/10.1186/s12885-017-3657-y>
- Shaffer, C.L., Gaddy, J.A., Loh, J.T., Johnson, E.M., Hill, S., Hennig, E.E., McClain, M.S., McDonald, W.H., & Cover, T.L. (2011). *Helicobacter pylori* exploits a unique repertoire of type IV secretion system components for pilus assembly at the bacteria-host cell interface. *PLoS Pathogens*, 7, e1002237.
- Shokrzadeh, M., Mohmmadpour, A., Hoseini, V., Abediankenari, S., Ghassemi-Barghin, N., & Tabari, Y. (2018). Serum cytokine of IL-2, IL-10 and IL-12 levels in patients with stomach adenocarcinoma. *Arquivos de Gastroenterologia*, 55(4), 385-389. <https://doi.org/10.1590/s0004-2803.201800000-83>.
- Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., Bray, F. (2020) Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *Cancer Journal for Clinicians* 71 (1),7-33 <https://doi.org/10.3322/caac.21660>.
- Szkaradkiewicz, A., Karpiński, TM., Drews, M., Borejsza-Wysocki, M., Majewski, P., Andrzejewska, E. (2010.) Natural killer cell cytotoxicity and immunosuppressive

- cytokines (IL-10, TGF-beta1) in patients with gastric cancer. *Journal of Biomedicine & Biotechnology*.2010:901564. DOI: 10.1155/2010/901564.
- van den Engel, N. K., Winter, H., Rüttinger, D., Shau, I., Schiller, M., Mayer, B., Moudgil, T., Meimarakis, G., Stolte, M., Jauch, K. W., Fox, B. A., & Hatz, R. A. (2006). Characterization of immune responses in gastric cancer patients: a possible impact of *H. pylori* to polarize a tumor-specific type 1 response? *Clinical immunology* (Orlando, Fla.), 120(3), 285–296. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2006.04.566>
- Vinagre, R., Vinagre, I., Vilar-e-Silva., A, Fecury, A., & Martins, L. (2018) *Helicobacter pylori* infection and immune profile of patients with different gastroduodenal diseases. *Arquivos de Gastroenterologia*, 55(2), 122-127. doi.org/10.1590/s0004-2803.201800000-21.
- Wang N., Lu, K., Qu, H., Wang, H., Chen, Y., Shan, T., Ge, X., Wei, Y., Zhou, P., Xia, J. (2020). CircRBM33 regulates IL-6 to promote gastric cancer progression through targeting miR-149. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 125 1-9.doi.org/10.1016/j.biopha.2020.109876.
- Wellmann, I. A., Villagrán, C. I., Fernández-Bostrán R., Hernández, E. & Une, C. (2018). Valor diagnóstico de las proteínas uPAR en sangre para el cáncer gástrico en Guatemala. *Ciencia Tecnología y Salud*, 5(1), 43–53.
- World Health Organization. (2012). Cancer Fact Sheets. Globocan 2012 (Iarc), 0–5. http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_cancer.aspx
- Wu, D., Zhang, P., Ma, J., Xu, J., Yang, L., Xu, W., Que, H., Chen, M., Xu, H. (2019). Serum biomarker panels for the diagnosis of gastric cancer. *Cancer Medicine*, 8, 1576-1583.<https://doi.org/10.1002/cam4.2055>
- Yakirevich, E., & Resnick, M. B. (2013). Pathology of gastric cancer and its precursor lesions. *Gastroenterology Clinics of North America*, 42, 261-284. DOI : 10.1016/j.gtc.2013.01.004
- Yamaoka, Y. (2010). Mechanisms of disease : *Helicobacter pylori* virulence factors. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 7, 629-641 [doi: 10.1038/nrgastro.2010.154](https://doi.org/10.1038/nrgastro.2010.154).

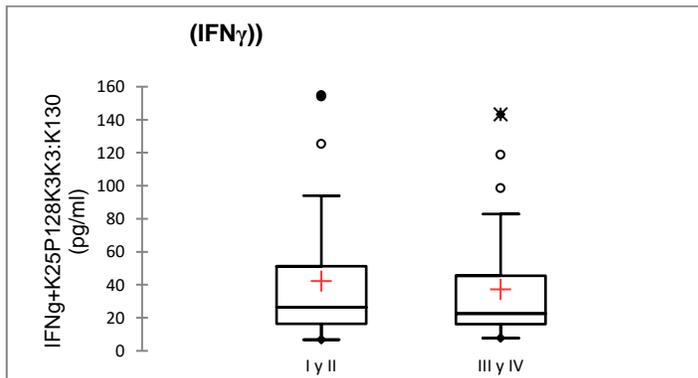
- Zhai, Z., Zhu, Z. Y., Zhang, Y., Yin, X., Han, B. L., Gao, J. L., Lou, S. H., Fang, T. Y., Wang, Y. M., Li, C. F., Yu, X. F., Ma, Y., & Xue, Y. W. (2020). Prognostic significance of Borrmann type combined with vessel invasion status in advanced gastric cancer. *World Journal of Gastrointestinal Oncology*, 12(9), 992–1004. <https://doi.org/10.4251/wjgo.v12.i9.992>
- Zhang, WH., Wang, XL., Zhou, J., An, LZ., Xie, XD. (2005). Association of interleukin-1B (IL-1B) gene polymorphisms with risk of gastric cancer in Chinese population. *Cytokine*, 30(6) :378-381. DOI : 10.1016/j.cyto.2005.02.002.
- Zhou, X., Zhu, H., Zhu, C., Lin, K., Cai, Q., Li, Z., & Du, Y. (2020). *Helicobacter pylori* infection and serum pepsinogen level with the risk of gastric Precancerous Conditions: A Cross-sectional study of high-risk gastric cancer population in China. *Journal of Clinical Gastroenterology*, Advance online publication. 1-7 <https://doi.org/10.1097/MCG.0000000000001444>
- Zou, Z., Zhao, L., Su, S., Liu, Q., Yu, L., Wei, J., Yang, Y., Juan, D., Jie, S., Xiaoping, Q., Xiangshan, F., Wenxian, G., Baorui, L., (2018). The plasma levels of 12 cytokines and growth factors in patients with gastric cancer. *Medicine*, 97(19), 1-6. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000010413>

IX. ANEXOS

Anexo 1

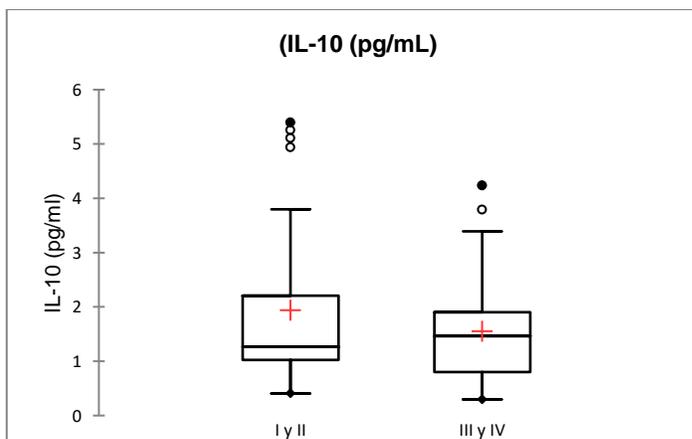
Comparaciones de los niveles de citocinas por estadio clínico de CG En todas las citocinas no hubo diferencias significativas por la prueba no paramétrica de U de Mann-Whitney

Comparación de los niveles de IFN γ por estadio clínico de cáncer gástrico



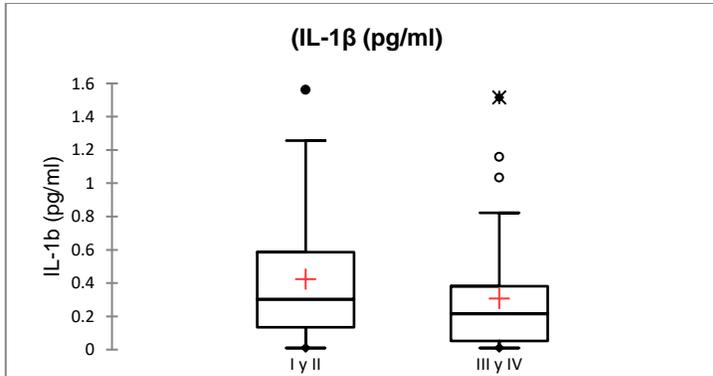
Valor de $p=0.629$

Comparación de los niveles de IL-10 por estadio clínico de cáncer gástrico



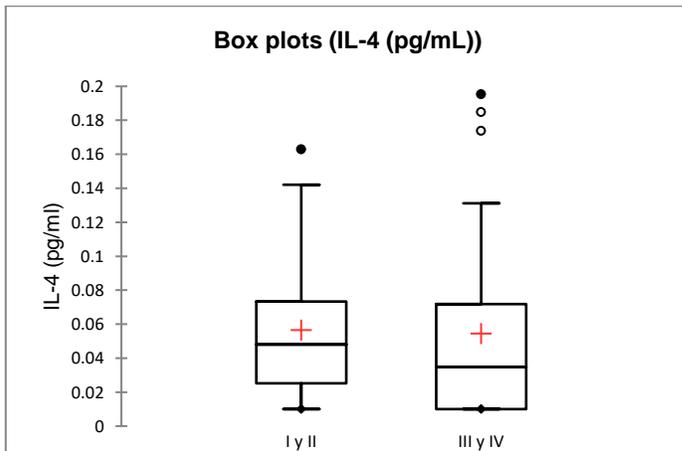
Valor de $p: =0.319$

Comparación de los niveles de IL-1 β por estadio clínico de cáncer gástrico



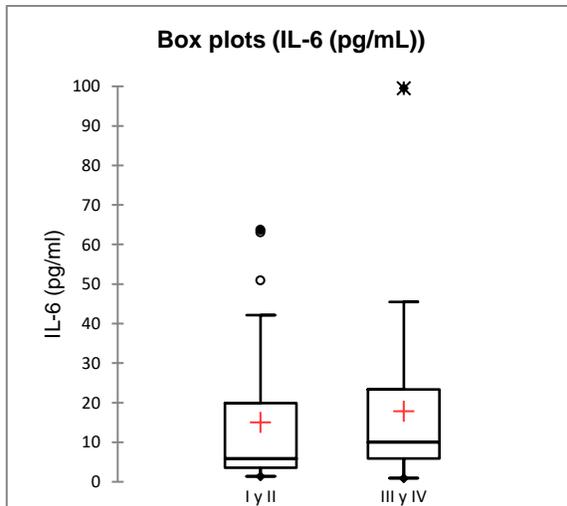
Valor de $p=0.180$

Comparación de los niveles de IL-4 por estadio clínico de cáncer gástrico



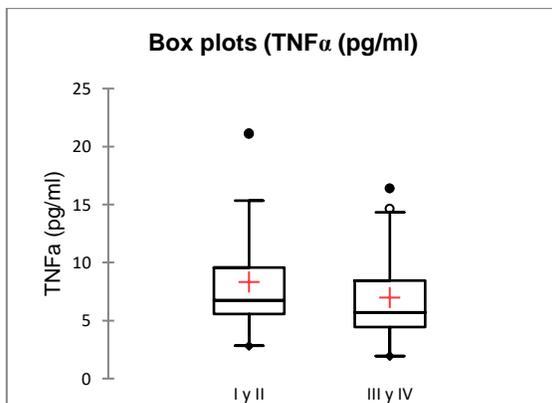
Valor de $P =0.370$

Comparación de los niveles de IL-6 por estadio clínico de cáncer gástrico



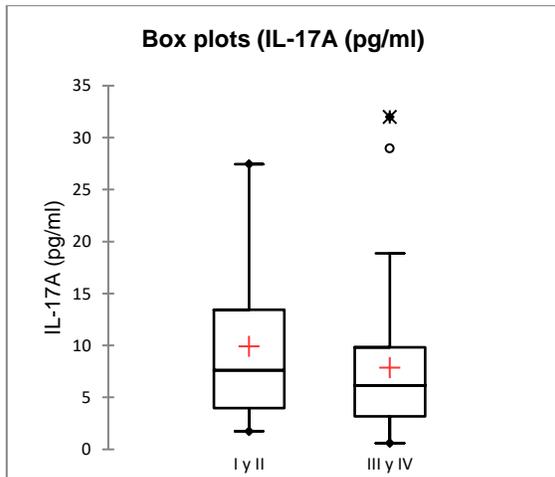
Valor de $P=0.324$

Comparación de los niveles de $TNF\alpha$ por estadio clínico de cáncer gástrico



Valor de $p=0.141$

Comparación de los niveles de IL-17A por estadio clínico de cáncer gástrico



Valor de P=0.207

Anexo No2

Boleta de recolección de datos

Universidad de San Carlos de Guatemala

No.

Facultad de Ciencias Médicas

Boleta de recolección de datos

Grupo étnico: _____ Lugar de procedencia: _____

Edad: _____

Status para *H. pylori*: _____

Estadio Clínico del tumor: _____

Clasificación de Borrmann: _____

TNM _____

Localización del tumor _____

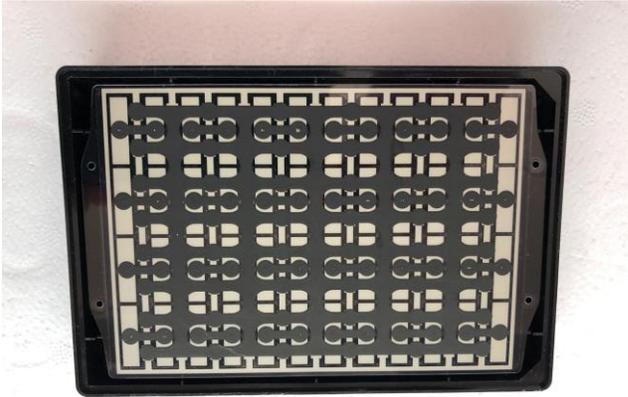
Clasificación de Lauren: _____

-

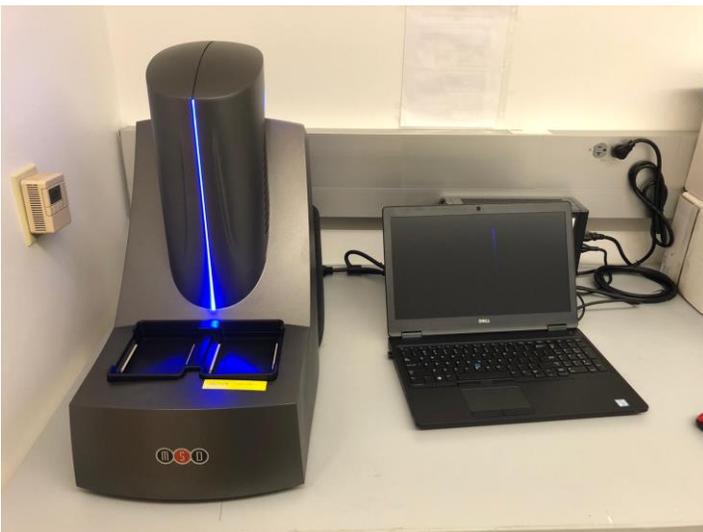
Biomarcador	Valor pg/ml
IL-1 β	
IL-6	
TNF α	
IL-10	

IFN γ	
IL-4	
IL-17A	

Anexo No. 3 Fotografías del equipo y kit determinación de citocinas



Placa para la reacción



MSD : equipo utilizado para la medición de citocinas



Kit utilizado para determinación de citocinas

Carta de aprobación del tema por la Escuela de Estudios de Post Grado de la Facultad de Ciencias Médicas



Facultad de Ciencias Médicas
Universidad de San Carlos de Guatemala

OFICIO DCB-CIB-66-2020
Guatemala 28 de septiembre 2020

Doctor
José Francisco Muñoz Valle
Rector
CUCS
Universidad de Guadalajara
Presente.

Doctora
Elisa del Carmen Hernández
Coordinadora
Doctorado en Ciencias Biomédicas
USAC
Presente.

Estimados Doctores:

Deseándoles éxitos en sus labores diarios, el motivo de la presente carta es para solicitarles que puedan continuar brindando la tutoría a la Dra. Carmen Irene Villagrán Blanco, profesional cursante del Programa del Doctorado de Ciencias Biomédicas, de la Facultad de Ciencias Médicas, de la Universidad de San Carlos de Guatemala, con carné No. 1003379. La Dra. Carmen Irene Villagrán Blanco, estará dando continuidad a la ejecución de su protocolo de tesis doctoral que ha titulado: **"VALORACION DE NIVELES DE CITOCINAS TH1/TH2/TH17, EN MUESTRAS SERICAS DE PACIENTES GUATEMALTECOS CON DIAGNOSTICO DE CANCER GÁSTRICO"**. Por lo tanto, esta coordinación les ha designado en calidad de Tutores del Programa de Doctorado en Ciencias Biomédicas, esperando su acompañamiento para la viabilidad, análisis de protocolo, ejecución y conclusión de este compromiso al realizar el examen y acto de graduación.

Agradecemos el apoyo que han brindado, otorgándole autoridad como tutores para fungir en las responsabilidades, derechos y compromisos que requieren en el desempeño de este cargo. Por tal motivo, se les solicita puedan enviar un informe circunstanciado a la Coordinación del Doctorado, del avance de la tesis a más tardar el 31 de octubre del 2020. Por vía electrónica se les hará llegar el documento de la tesis antes mencionada, para que disponga del procedimiento a seguir.

Agradeciendo la atención a la presente y con la mejor disposición de desarrollar nuestras labores.

Cordialmente.

Dra. Elisa del Carmen Hernández de Rodas
Coordinadora
Programa de Doctorado en Ciencias Biomédicas
Facultad de Ciencias Médicas,
Universidad de San Carlos de Guatemala, USAC
doctoradocib@gmail.com

"ID Y ENSEÑAN A TODOS"
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS
PROGRAMA DE CIENCIAS BIOMÉDICAS
ESCUELA DE ESTUDIOS DE POSTGRADO


2020
Vo.Bo. Dr. Rigoberto Velásquez Paz
Director
Escuela de Estudio de Postgrado
Facultad de Ciencias Médicas

CC. Archivo/ Dr. Carmen de Tercero/ Interesado
Dr. Rigoberto Velásquez Paz, Director EEPG

Carta de aprobación del protocolo por el comité de Ética en Investigación ZUGUEME

ZUGUEME

COMITE ETICA INDEPENDIENTE
3ª CALLE 11-36 ZONA 15, COLONIA TECUN UMAN
TEL-FAX. (502) 23 69 1885
e-mail: comitedeeticazugueme@gmail.com www.zugueme.org
GUATEMALA, GUATEMALA 01015

OFZU1524-20

Guatemala 19 noviembre 2020

Dra.
CARMEN VILLAGRÁN DE TERCERO INVZU404-20
Investigador Principal

Dra. De Tercero:

Por este medio le informamos que en sesión celebrada por este Comité el día 18 noviembre 2020, luego de amplia discusión, se decidió APROBAR el protocolo del estudio **Valoración de niveles de citosina Th1/Th2/Th17, en muestras séricas de pacientes guatemaltecos con cáncer gástrico, PROZU552-20**, tomando en consideración lo siguiente:

- Los problemas originados por la Pandemia COVID-19
- Problemas atmosféricos que afectaron los archivos del Hospital Roosevelt
- Pauta 11 de CIOMS 2016 que indica "Cuando los Investigadores procuren usar materiales almacenados que fueron recolectados para investigaciones, usos clínicos u otros propósitos pasados sin haber obtenido el consentimiento informado para su uso futuro en una investigación, el comité de ética de la investigación puede omitir el requisito de consentimiento informado individual si: 1) no sería factible o viable realizar la investigación sin la dispensa; 2) la investigación tiene un valor social importante; y 3) la investigación entraña apenas riesgos mínimos para el participante o el grupo al cual este pertenece".

Por lo tanto se autoriza con dispensa de consentimiento informado, solamente solicitamos aclarar bien en el protocolo que no se utilizarán datos de información personal identificable.

Atentamente,


Dra. Ligia Urizar
Secretaria
c.c. archivo

ZUGUEME
COMITE ETICA INDEPENDIENTE
GUATEMALA, C. A.

