



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Farmacia y Bioquímica

Escuela Profesional de Toxicología

Prevalencia y distribución de los genes de colonización *hspA* y *ureA* y genes de virulencia asociados a citotoxinas *cagA* y *vacA* del *Helicobacter pylori* en pacientes con cáncer gástrico atendidos en el INEN de Lima Metropolitana durante el periodo 2016-2017

TESIS

Para optar el Título Profesional de Toxicólogo

AUTOR

Roberto Carlos VEGA CASPA

ASESORES

Carlos Arturo CASTAÑEDA ALTAMIRANO

Miluska CASTILLO GARCÍA (Coasesora)

Lima, Perú

2020



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Vega R. Prevalencia y distribución de los genes de colonización *hspA* y *ureA* y genes de virulencia asociados a citotoxinas *cagA* y *vacA* del *Helicobacter pylori* en pacientes con cáncer gástrico atendidos en el INEN de Lima Metropolitana durante el periodo 2016-2017 [Tesis]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Escuela Profesional de Toxicología; 2020.

Hoja de metadatos complementarios

Código ORCID del autor	—
DNI o pasaporte del autor	DNI 46805821
Código ORCID del asesor	Asesor: 0000-0001-6200-0856 Co-asesor: 0000-0002-0111-3176
DNI o pasaporte del asesor	DNI Asesor: 09873222 DNI Co-asesor: 46652172
Grupo de investigación	—
Agencia financiadora	FONDECYT
Ubicación geográfica donde se desarrolló la investigación	Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas Avenida Angamos Este 2520, Surquillo. 15038
Año o rango de años en que se realizó la investigación	2016 - 2017
Disciplinas OCDE	Toxicología http://purl.org/pe-repo/ocde/ford#3.01.07 Oncología http://purl.org/pe-repo/ocde/ford#3.02.21 Epidemiología http://purl.org/pe-repo/ocde/ford#3.03.09



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Farmacia y Bioquímica
Decanato



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Los Miembros del Jurado Examinador y Calificador de la Tesis titulada:

“Prevalencia y distribución de los genes de colonización *hspA* y *ureA* y genes de virulencia asociados a citotoxinas *cagA* y *vacA* del *Helicobacter pylori* en pacientes con cáncer gástrico atendidos en el INEN de Lima Metropolitana durante el periodo 2016-2017”

Que presenta el Bachiller en Toxicología:

ROBERTO CARLOS VEGA CASPA

Que reunidos en la fecha se llevó a cabo la **SUSTENTACIÓN** de la **TESIS**, y después de las respuestas satisfactorias a las preguntas y objeciones formuladas por el Jurado, y practicada la votación han obtenido la siguiente calificación:

Diecisiete (17)

en conformidad con el Art. 34.º del Reglamento para la obtención del Grado Académico de Bachiller en Toxicología y Título Profesional de Toxicólogo (a) de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Lima, 14 de octubre de 2020

Mg. Carmen Gladys Peña Suasnabar
Presidenta

“FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓXICO”

Este trabajo de tesis está dedicado:

A todas las personas que depositan su confianza en mí, especialmente a mi familia y a mi prometida, quienes me dan las fuerzas para lograr mis objetivos y continuar el día a día.

Agradecimientos

A la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, por brindarme los conocimientos y herramientas necesarios para mi formación profesional.

A la Escuela Profesional de Toxicología, a mis profesores, por todas sus enseñanzas y el conocimiento brindado durante mi formación académica profesional y ciudadana.

Al Dr. Carlos Castañeda Altamirano, por orientarme durante el desarrollo de esta tesis, y por brindarme los lineamientos necesarios para involucrarme en el campo de la investigación, contribuyendo de esta manera en mi formación profesional.

A la Tox. Miluska Castillo, por el apoyo en la revisión de este trabajo y la orientación en el desarrollo de la misma.

Al Departamento de Investigación y los servicios del INEN, por brindarme las fuentes necesarias para el desarrollo de este trabajo, y permitirme conocer la realidad del cáncer en nuestro país.

Tesis financiada por FONDECYT bajo el convenio N° 197-2015 “Análisis de la metilación producida por los agentes infecciosos causantes del cáncer gástrico y su interacción con el sistema inmune del huésped”

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE TABLAS	1
ÍNDICE DE FIGURAS	2
ÍNDICE DE GRÁFICAS.....	3
ÍNDICE DE ANEXOS	4
ABREVIATURAS	5
RESUMEN.....	6
ABSTRACT.....	7
I. INTRODUCCIÓN	8
1.1. Justificación.....	9
1.2. Objetivos	9
1.2.1. Objetivo General	9
1.2.2. Objetivos específicos.....	10
II. MARCO TEÓRICO	11
2.1. Antecedentes.....	11
2.2. Bases teóricas.....	13
III. METODOLOGÍA DE TRABAJO.....	27
3.1. Aprobación del proyecto y consentimiento Informado.....	27
3.2. Diseño de Ficha de Recolección de Datos	27
3.3. Población de estudio	27
3.4. Revisión de historias clínicas.....	28
3.5. Procedimiento de recolección de datos	28
3.6. Determinación de las zonas de alto y bajo riesgo.....	29
3.7. Obtención de la muestra biológica.....	30
3.8. Extracción del ADN de las muestras	31
3.9. Cuantificación del ADN de las muestras.....	31
3.10. Genotipado del <i>H. pylori</i> mediante PCR	32

3.11. Condiciones y procesamiento de la PCR.....	33
3.12. Procesamiento de datos y análisis estadístico.....	34
IV. RESULTADOS	35
4.1. Características de los pacientes en los aspectos epidemiológicos con diagnóstico de cáncer gástrico.....	35
4.2. Características de los pacientes en los aspectos clínico-patológicos con diagnóstico de cáncer gástrico.....	35
4.3. Características de los pacientes en el aspecto molecular con diagnóstico de cáncer gástrico.....	37
4.4. Características epidemiológicas de los pacientes para las dos áreas geográficas con riesgo opuesto	38
4.5. Características clínico-patológicas de los pacientes para las dos áreas geográficas con riesgo opuesto	39
4.6. Distribución de los genes de colonización y virulencia para las dos áreas geográficas con riesgo opuesto	40
4.7. Zonas de alto y bajo riesgo para cáncer gástrico por distrito en el periodo 2016 – 2017, Lima Metropolitana.....	41
4.8. Zonas de alta y baja prevalencia de la infección por <i>H. pylori</i> por distrito en el periodo 2016 - 2017, Lima Metropolitana.....	43
4.9. Distribución de los genes de virulencia del <i>H. pylori</i> positivo, <i>cagA</i> positivo y/o <i>vacA</i> positivo	44
V. DISCUSIÓN	60
VI. CONCLUSIONES	63
VII. RECOMENDACIONES.....	64
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	65
ANEXOS.....	71

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Características de los tipos I, II, III y IV (Bormann)	19
Tabla 2. Cebadores con los segmentos de las secuencias sentido y antisentido utilizadas para detectar el <i>H. pylori</i> y Temperatura de fusión (T _m , del inglés Melting temperature) de cada cebador.	33
Tabla 3. Características epidemiológicas de los pacientes diagnosticados con cáncer gástrico.....	35
Tabla 4. Características clínico patológicas de los pacientes diagnosticados con cáncer gástrico.....	36
Tabla 5. Características moleculares de los pacientes diagnosticados con cáncer gástrico	38
Tabla 6. Características epidemiológicas de los pacientes en las zonas de Alto Riesgo (AR) y Bajo Riesgo (BR) con cáncer gástrico	39
Tabla 7. Características clínico patológicas de los pacientes en las zonas de Alto Riesgo (AR) y Bajo Riesgo (BR) con cáncer gástrico	39
Tabla 8. Distribución de los genes <i>hspA</i> , <i>ureA</i> , <i>cagA</i> y <i>vacA</i> para las dos áreas geográficas de Alto Riesgo (AR) y Bajo Riesgo (BR) de cáncer gástrico.....	41

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Zonas de riesgo para cáncer gástrico por distrito 2010-2012.....	30
Figura 2. Porcentaje de cáncer gástrico por distrito 2016-2017 en la población de estudio (n=118).....	42
Figura 3. Porcentaje de prevalencia de infección por <i>H. pylori</i> por distrito 2016-2017	44

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Distribución de los genes de virulencia <i>cagA</i> (+) y/o <i>vacA</i> (+) por distritos en Lima Metropolitana	45
Gráfica 2. Distribución de los genes de colonización <i>hspA</i> y/o <i>ureA</i> por sectores en pacientes con cáncer gástrico de Lima Metropolitana	46
Gráfica 3. Distribución de los genes de virulencia <i>cagA</i> y/o <i>vacA</i> por sectores en pacientes infectados por <i>H. pylori</i> de Lima Metropolitana	47
Gráfica 4. Distribución de los genes de colonización <i>hspA</i> y/o <i>ureA</i> por grupos etarios según la mediana de edad	48
Gráfica 5. Distribución de los genes de virulencia <i>cagA</i> y/o <i>vacA</i> por grupos etarios según la mediana de edad	49
Gráfica 6. Distribución de los genes de colonización <i>hspA</i> y/o <i>ureA</i> según el sexo en pacientes con cáncer gástrico de Lima Metropolitana	50
Gráfica 7. Distribución de los genes de virulencia <i>cagA</i> y/o <i>vacA</i> según el sexo en pacientes infectados por <i>H. pylori</i> de Lima Metropolitana	51
Gráfica 8. Distribución de los genes de virulencia <i>cagA</i> y <i>vacA</i> según los antecedentes personales en pacientes infectados por <i>H. pylori</i> de Lima Metropolitana	52
Gráfica 9. Distribución de los genes de colonización <i>hspA</i> y/o <i>ureA</i> según los antecedentes familiares en pacientes con cáncer gástrico de Lima Metropolitana	53
Gráfica 10. Distribución de los genes de virulencia <i>cagA</i> y <i>vacA</i> según el estadio clínico en pacientes infectados por <i>H. pylori</i> de Lima Metropolitana	54
Gráfica 11. Distribución de los genes de virulencia <i>cagA</i> y <i>vacA</i> según el subtipo histológico, clasificación dada por la OMS, en pacientes infectados por <i>H. pylori</i> de Lima Metropolitana	55
Gráfica 12. Distribución de los genes de virulencia <i>cagA</i> y <i>vacA</i> según el grado histológico en pacientes infectados por <i>H. pylori</i> de Lima Metropolitana	56
Gráfica 13. Distribución de los genes de virulencia <i>cagA</i> y <i>vacA</i> según el Bormann en pacientes infectados por <i>H. pylori</i> de Lima Metropolitana	57
Gráfica 14. Distribución de los genes de colonización <i>hspA</i> y/o <i>ureA</i> según la localización tumoral en pacientes con cáncer gástrico de Lima Metropolitana	58
Gráfica 15. Distribución de los genes de virulencia <i>cagA</i> y <i>vacA</i> según el compromiso ganglionar en pacientes infectados por <i>H. pylori</i> de Lima Metropolitana	59

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Aprobación por el Comité Revisor de Protocolos del Departamento de Investigación del INEN.	71
Anexo 2. Aprobación por el Comité Institucional de Ética en Investigación del INEN.	72
Anexo 3. Consentimiento informado y ficha de recolección de datos.	73

ABREVIATURAS

- ARNr:** Ácido Ribonucleico ribosomal
- cagA:** Gen A asociado a la citotoxina
- CG:** Cáncer Gástrico
- DNA:** Deoxyribose Nucleic Acid
- DU:** Duodenal Ulcer
- EC:** Estadío Clínico
- EUA:** Estados Unidos de América
- GLOBOCAN:** Global Observatory Cancer
- GU:** Gastric Ulcer
- hspA:** Gen Heat Shock Protein A
- H. pylori:** *Helicobacter pylori*
- IARC:** International Agency for Research on Cancer
- LPS:** Lipopolisacáridos
- PCR:** Polymerase Chain Reaction
- ureA:** Gen de la ureasa
- vacA:** Gen A de la citotoxina vacuolizante

RESUMEN

El *Helicobacter pylori* desempeña un papel fundamental en el desarrollo del cáncer gástrico siendo su toxicidad diferente en la distribución de sus genes patógenos en un área geográfica. El presente estudio evaluó la prevalencia y distribución de los genes de colonización (*hspA* y *ureA*) y virulencia (*cagA* y *vacA*) del *H. pylori* en 118 pacientes provenientes de Lima Metropolitana con diagnóstico de cáncer gástrico atendidos en el Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas. Se recolectó piezas tumorales, congeladas hasta la genotipificación del *H. pylori*. El ADN se extrajo del tejido y posteriormente se utilizó para la detección cuantitativa por PCR en tiempo real los genes de colonización y de virulencia de *H. pylori* usando cebadores específicos. Los resultados indicaron la prevalencia del *H. pylori* del 63,56% (75/118) teniendo los genes de colonización positivos. Los genes de virulencia, el 90,67% (68/75) de casos positivos para el gen *cagA*, y el 88,00% (66/75) para el gen *vacA*. Se determinó una zona de alto riesgo (AR) y de bajo riesgo (BR), de cáncer gástrico, para ubicar la distribución de los genes del *H. pylori* por distrito de Lima Metropolitana. Se usó la ficha de datos encontrándose algunos resultados significativos, el sexo femenino 54,17% (26/48) ($p < 0.005$) en la zona AR. El estudio concluyó que los distritos de alto riesgo de cáncer gástrico son San Juan de Lurigancho, Villa El Salvador y El Callao con una prevalencia del *H. pylori* con distribución de los genes de virulencia positivos en todos los casos.

Palabras Clave: *H. pylori*, *hspA*, *ureA*, *cagA*, *vacA*, prevalencia, distribución.

ABSTRACT

Helicobacter pylorus plays a fundamental role in the development of gastric cancer, its toxicity being different in the distribution of its pathogenic genes in a geographical area. The present study evaluated the prevalence and distribution of the colonization genes (*hspA* and *ureA*) and virulence (*cagA* and *vacA*) of *H. pylori* in 118 patients from Metropolitan Lima with a diagnosis of gastric cancer treated at the National Institute of Neoplastic Diseases. Tumor pieces were collected, frozen until *H. pylori* genotyping. The DNA was extracted from the tissue and subsequently used for the quantitative detection by real-time PCR of colonization and virulence genes of *H. pylori* using specific primers. The results indicated the prevalence of *H. pylori* of 63.56% (75/118) having positive colonization genes. The virulence genes, 90.67% (68/75) of cases were positive for the *cagA* gene, and 88.00% (66/75) for the *vacA* gene. A high risk (HR) and low risk (LR) area for gastric cancer was determined to locate the distribution of *H. pylori* genes by district of Metropolitan Lima. The data sheet was used, finding some significant results, female 54.17% (26/48) ($p < 0.005$) in the HR zone. The study concluded that the districts at high risk of gastric cancer are San Juan de Lurigancho, Villa El Salvador and El Callao with a prevalence of *H. pylori* with distribution of positive virulence genes in all cases.

Keywords: *H. pylori*, *hspA*, *ureA*, *cagA*, *vacA*, prevalence, distribution.

I. INTRODUCCIÓN

En Latinoamérica, la aparición de casos y muerte por cáncer gástrico varían según el área geográfica. Las mayores tasas están relacionadas con las áreas de montañas del océano Pacífico, en los cuales incluye a Chile, Colombia, Costa Rica, Ecuador y Perú^{1,2}.

En Perú, el cáncer gástrico tiene una gran prevalencia³. Así, entre los años del 2010 al 2012 se diagnosticaron 4 821 personas con diagnóstico de cáncer gástrico provenientes de Lima Metropolitana con una tasa de incidencia estandarizada de 17,1 casos por 100 000 habitantes. El cáncer gástrico representó 7,9% de todas las neoplasias malignas y 55,4% de los casos se presentaron en hombres⁴.

Respecto a la mortalidad, el cáncer que causa más muertes en Lima Metropolitana es el gástrico. Desde el 2010 al 2012 se reportó 3 437 fallecidos por cáncer de estómago con una tasa de mortalidad de 12,1 por 100 000 habitantes. El riesgo acumulado de desarrollar esta enfermedad a los 74 años fue del 2,18% en hombres (1 de cada 46 hombres) y 1,42% en mujeres (1 de cada 70 mujeres)⁴.

El *H. pylori* se ha identificado en casi el 50% países del mundo. Esta bacteria Gram-negativa está etiológicamente involucrada en el desarrollo de adenocarcinoma gástrico. Si bien este fenómeno permanece sin explicación, la genética del huésped, la respuesta inmune del huésped y la relación de la respuesta del huésped a los factores de colonización, como son los genes *hspA* y *ureA*, y la capacidad que tiene para producir una enfermedad parecen desempeñar un papel crítico. Los factores de virulencia de *H. pylori* mejor estudiados son los genes *cagA* y *vacA*. Se informa que las cepas productoras de *cagA* y *vacA* están relacionadas con resultados clínicos severos, especialmente en países occidentales^{5, 6, 7}.

El Gastrointestinal Physiology Working Group de la Universidad Peruana Cayetano Heredia y la Universidad de Johns Hopkins han hecho las primeras investigaciones epidemiológicas de la infección por *H. pylori* en Perú teniendo como conclusión en un escenario epidemiológico, que las infecciones por dicha

bacteria están cambiando significativamente y que en contraste con otros países tienen características similares⁸.

No existe similitud en la aparición del cáncer gástrico, en contraste, en los distritos de Lima Metropolitana, con porcentajes altos, y otros distritos, con porcentajes bajos⁴. Por lo tanto, la identificación de los genes *vacA* y *cagA* permite identificar las cepas con mayor virulencia y asociadas con cuadros clínicos más severos en dos regiones geográficas de Lima Metropolitana^{4,9}.

1.1. Justificación

Este estudio contribuiría a identificar los puntos focales, según la ubicación geográfica, para implementar y potenciar las estrategias diagnósticas tempranas y preventivas, intervenciones de salud pública más importantes para cáncer gástrico fomentando así una cultura de prevención en salud. Asimismo, con los resultados que se obtengan, tendremos una base estadística de la distribución de estos genes de virulencia (*cagA* y *vacA*) y de colonización (*hspA* y *ureA*) en los distritos en Lima metropolitana, que nos permita tener un mapeo de los mismos y para nuestra sociedad será muy importante que esta investigación permita conocer el riesgo de desarrollar cáncer gástrico a los pacientes, los cuales se les detecte el *H. pylori*, en los hospitales generales y especializados lo que, en consecuencia, en el sentido económico, podría reducir gastos de procedimientos invasivos que se hacen cuando se detecta un cáncer.

1.2. Objetivos

1.2.1. Objetivo General

- Evaluar la prevalencia y distribución de los genes de colonización (*hspA*, *ureA*) y virulencia (*vacA* y *cagA*) del *H. pylori*, en pacientes provenientes de Lima Metropolitana con cáncer gástrico atendidos en el Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas entre el 2016 y el 2017.

1.2.2. Objetivos específicos

- Estimar los distritos de alto riesgo para cáncer gástrico de Lima Metropolitana.
- Estimar la prevalencia de los genes de colonización del *H. pylori*, mediante la genotipificación de *hspA* y *ureA* por PCR cuantitativo, en los distritos de alto riesgo en pacientes con cáncer gástrico.
- Estimar la distribución de los genes de virulencia del *H. pylori*, mediante la genotipificación de *vacA* y *cagA* por PCR cuantitativo en los distritos de alto riesgo en pacientes con cáncer gástrico.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

Wang y col (2013) evaluaron la prevalencia de marcadores de virulencia de *H. pylori* en Asia oriental, una región con alto riesgo de cáncer gástrico. Las cepas de *H. pylori* se aislaron de 116 pacientes con enfermedades gastroduodenales en este estudio y que fueron diagnosticadas por manifestaciones patológicas, gastritis crónica (CG, n=54), úlcera gástrica (GU, n=25), úlcera duodenal (DU, n=26) y cáncer gástrico (GC, n=11). Los genes *cagA*, *vacA* se determinaron mediante PCR. El *CagA* se presentó con mayor frecuencia en la gastritis crónica (44.4%) que en los resultados clínicos severos (9,7%, $p < 0,001$). Los genotipos *vacA* más prevalentes fueron *s1a / m2* (48.3%) y *s1c / m2* (13,8%). Concluyeron que la alta tasa de *cagA* y variantes *vacA* en Asia Oriental puede ser la base del alto riesgo de cáncer gástrico en la región¹⁰.

Martínez y col (2013) evaluaron los cambios histopatológicos en la mucosa gástrica de 297 pacientes portadores de *H. pylori*, genotipos *cagA* y *vacA*, en 2 zonas de riesgo opuesto para cáncer gástrico en Colombia. Se analizaron biopsias de 109 pacientes de la zona de riesgo alto y 107 de la zona de riesgo bajo. La genotipificación del *H. pylori* se realizó mediante PCR, a partir de ADN de biopsias. La severidad de las alteraciones histopatológicas, el grado de inflamación crónica, atrofia y metaplasia, en los pacientes infectados con los genotipos *cagA* y *vacAs1/m1* fue mayor en la zona de riesgo alto ($p \leq 0,05$). El gen *vacA* se asoció a una severidad mayor de atrofia y metaplasia y el gen *cagA+* aumenta el riesgo de metaplasia en la zona de riesgo alto (OR = 9,13; IC 95%)¹¹.

Trujillo y col (2014) evaluaron las diferencias entre las frecuencias de los genes virulentos del *H. pylori*, *cagA+*, *vacA s1/m1*, en dos regiones de Colombia con riesgo opuesto de cáncer gástrico. Se analizaron 401 biopsias del antro gástrico provenientes de individuos con diagnóstico de gastritis no atrófica, gastritis atrófica o metaplasia intestinal; 256 se obtuvieron en la zona de alto riesgo (Tunja y Bogotá) y, 145, en la zona de bajo riesgo (Barranquilla, Santa Marta y Cartagena). La genotipificación de los genes de virulencia se hizo mediante PCR. No se

observó diferencia en la frecuencia de infección por *H. pylori* entre las dos zonas (77,3 vs. 77,9 %, p=no significativo, ns). La presencia de *cagA*+ fue mayor en la zona de bajo riesgo (77,9 vs. 69,2 %, p=ns). La combinación *cagA*+/*s1m1* también fue más frecuente en la zona de bajo riesgo (48,9 vs. 38,9 %, p=ns)⁹.

Martínez y col (2014) evaluaron los genotipos *vacA* y *cagA* de *H. pylori* en biopsias de pacientes con gastritis crónica y CG en el Estado de México. Se estudió a 95 pacientes con diagnóstico histológico confirmatorio de gastritis crónica y 20 con resultados histopatológicos de adenocarcinoma gástrico. La detección y genotipificación de *H. pylori* se realizó mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR). La media de edad para el grupo de gastritis crónica fue de 47,4 años y de 60,9 años con cáncer gástrico (p< 0.001). De los 115 pacientes incluidos en el estudio, 66 (57,4%) fueron *H. pylori* positivos y el genotipo más frecuente fue *vacAs1m1/cagA*+, el 69,7% (46/66). Concluyeron que la prevalencia de infección por *H. pylori* es de 60% en CG (12/20) siendo el genotipo *vacAs1m1/cagA*+ el más frecuente, el 58,3% (7/12)¹².

Pinto y col. (2016) evaluaron la relación de los genes *vacA* y *cagA* en 290 pacientes con CG en la ciudad de Macao, China. Se utilizaron muestras de tejidos gástricos parafinados para evaluar los genotipos de *vacA* de *H. pylori* y la presencia del gen *cagA* usando la técnica de PCR. Las muestras incluyeron 238 casos de gastritis crónica y 52 casos de CG. La prevalencia de cepas *cagA*-positivas fue del 87,5%. No se observaron asociaciones significativas entre los genotipos *vacA* o *cagA* y el CG. Concluyeron que el 37,5% de los pacientes infectados tenían coexistencia de cepas de *H. pylori* con diferentes genotipos *vacA*¹³.

Bibi y col. (2017) su estudio consistió en detectar *H. pylori* y evaluar la prevalencia de los genes de virulencia *cagA*, *vacA s1/s2* y *vacA m1/m2* en biopsias de *H. pylori* de CG (n=35) y UG (n=10) en tres regiones (Este, Central y Oeste) de Arabia Saudita. La cepa de *H. pylori* fue detectada mediante PCR, además los genes de virulencia mencionados. De las 45 muestras analizadas, 20 casos de CG y 10 casos de UG fueron *H. pylori* positivos. La tasa de genes de

virulencia *vacAs1* fue mayor en UG (80%) y CG (100%) en comparación con sus demás variantes; y la prevalencia del gen *cagA* fue de 30% en pacientes GU y 40% en pacientes GC. El estudio concluyó que *vacAs1*, *vacAm1* son los genotipos más prevalentes y pueden desempeñar un papel en el desarrollo de CG¹⁴.

Bernabé (2017) evaluó la prevalencia de genes de factores de colonización ureasa (*ureA*) y proteína de shock térmico (*hspA*) de *H. pylori* en 84 muestras de agua que correspondieron a 84 pacientes con diagnóstico de cáncer gástrico. El estudio se realizó utilizando la técnica de Reacción en cadena de las polimerasas cuantitativa (qPCR). De las 84 muestras de agua evaluadas, se observó la prevalencia de *H. pylori*, al menos con alguno de los dos factores de colonización evaluados, en el 11,90 % (10/84), ubicándose 6 de ellas en la zona este de Lima¹⁵.

Custodio (2017) evaluó 144 muestras de cáncer de tejido gástrico de pacientes que fueron a cirugía entre abril de 2015 y septiembre de 2016 al INEN. El ADN extraído del tejido se utilizó para la cuantificación por PCR de genes de colonización (*ureA* y *hspA*) y de virulencia (*vacAs*, *vacAm* y *cagA*) del *H. pylori*. Las tasas de genes de colonización positivos *H. pylori* en el tejido tumoral, tejido sano proximal y tejido sano distal fueron del 31,1%; 51,05%; 61,5% (*ureA*) y 64,3%; 65,04%; 67,3% (*hspA*), respectivamente. Las tasas de los genes de virulencia fueron 67,8%; 70,6%; 73,4% (*vacAs*); 79,7%; 83,9%; 79,7% (*vacAm*); Y 81,1%; 86,7%; 86,01% (*cagA*), respectivamente. El concluyó que el *H. pylori* presenta alta prevalencia en pacientes con cáncer gástrico en Perú¹⁶.

2.2. Bases teóricas

2.2.1. Cáncer gástrico

Una de las enfermedades neoplásicas del tracto digestivo con mayor frecuencia en el mundo es el cáncer gástrico^{17,18}. El 95% de las neoplasias malignas del estómago son adenocarcinomas mayormente¹⁷.

2.2.2. Epidemiología del cáncer gástrico

El cáncer gástrico (GC) es la segunda causa principal de mortalidad relacionada con el cáncer y la cuarta más común cáncer globalmente^{19,20}. Sin embargo, sus tasas de incidencia en diferentes regiones geográficas son claramente variadas²¹. En Chile y Costa Rica destacan por su mortalidad de más de 40 por 100 000 habitantes²².

En Perú, entre los años 2010 y 2012, aparecieron 4821 casos nuevos de cáncer gástrico en la población de Lima Metropolitana (17,1 casos por 100 000 habitantes). El 7,9% de todos los cánceres fue gástrico siendo los hombres los que presentaron la mayor frecuencia (55,4%). Además, para los hombres el cáncer gástrico es el segundo más frecuente⁴.

Por otro lado, el cáncer gástrico fue la primera causa de mortalidad en toda Lima Metropolitana. Tres mil cuatrocientos treinta y siete fallecidos por cáncer gástrico en el periodo 2010-2012. Lo que corresponde, en términos de tasa, a 12,1 por 100 000 habitantes. EL riesgo acumulado, de tener esta predisposición a tener el cáncer gástrico, es a partir de los 74 años para el sexo masculino (1 de cada 46 hombres, 2,18%) y en el sexo femenino (1 de cada 70 mujeres, 1,42%). Todo fue confirmado mediante el diagnóstico histológico del 78%⁴.

2.2.3. Etiología del cáncer gástrico

Hay factores que dan una mayor predisposición a desarrollar cáncer gástrico. Según algunos estudios la anemia perniciosa hace que el riesgo aumente de 4 a 6 veces para una población promedio^{23,24}.

Otro factor, sería la cirugía gástrica que se realizan para patologías benignas, que pasando los 15 años aproximadamente, tiene una asociación a dar una mayor probabilidad de desarrollar cáncer gástrico en los bordes residuales del estómago producto de la gastrectomía²³.

Respecto al ámbito ocupacional, se describe que hay un mayor riesgo de cáncer gástrico en trabajadores de caucho, minas de carbón, ceramistas y que tengan alguna relación con el procesamiento de la madera. Sin embargo, no se ha

determinado si este riesgo ocupacional corresponde al nivel social y económico de los trabajadores²³.

La glutatión transferasa está relacionada en la desintoxicación de las sustancias con un gran potencial carcinogénico. En China se ha encontrado que el genotipo no activo de esta enzima posiblemente tenga una relación con el aumento de riesgo del cáncer gástrico²⁵.

Desde el punto nutricional, muchos investigadores relacionan el incremento del riesgo del cáncer gástrico con la alimentación, principalmente. Comentan que una concentración alta de carbohidratos complejos, y pocas frutas y verduras más alta concentración de cloruro de sodio incrementa la capacidad mutagénica de los nitritos^{18,24}.

Tenemos como lesiones antecesoras a la gastritis atrófica crónica y la metaplasia intestinal que se le consideran como estados precancerosos por su relación con los cambios ya sea al nivel del pH, aumento de la concentración de nitritos y nitratos en el jugo gástrico que en consecuencia producen cambios gástricos significativos^{24,26}.

La incidencia es alta en pacientes que abusan del consumo de tabaco y alcohol²². La infección por *H. pylori* cobró un interés importante en salud pública desde su identificación en 1983^{24,27}. Tanto para mujeres y afroamericanos están relacionados con padecer cáncer gástrico, además, en un estudio de hace poco tiempo, hecho por Alexander G. nos comenta que se está incrementando el riesgo de padecer cáncer gástrico en los habitantes hispanos. Y es muy probable que la infección por *H. pylori* sea la causa de las lesiones malignas gástricas²⁷. Y para apoyar dicha relación tenemos, en principio, que en los Estados Unidos de América hay incremento de la incidencia de infección por *H. pylori* en pacientes con carcinoma en el estómago. En segundo, tenemos que hay una elevada tasa de cáncer gástrico en relación con la incidencia de infección por *H. pylori* en el país asiático de China¹⁸, en tercero, se ha encontrado que hay una alta frecuencia en muchas partes del mundo donde el cáncer gástrico presenta una gran incidencia^{18,27}, Finalmente tenemos una estimación que el cáncer gástrico este

muy relacionada con la infección por *H. pylori* en un 60 % en una población en general¹⁸.

2.2.4. Fisiopatología del cáncer gástrico

El equilibrio celular es muy importante para entender el proceso de carcinogénesis, ya que tenemos que entender los procesos reguladores del crecimiento y reproducción celular en un estado normal. Hay cuatro funciones relacionadas con el equilibrio tisular, en primer lugar tenemos, la proliferación apropiada y correcta del contenido nuclear del ácido desoxirribonucleico, en segundo lugar la diferenciación de los tejidos que deben tener una característica compatible para la realización funcional normal del tejido, en tercer lugar, debe haber un equilibrio entre la proliferación e involución normal del tejido, en cuarto lugar, se debe reparar algún daño al nivel del ácido desoxirribonucleico a consecuencia de exponerse a radiaciones, toxinas y otros agentes mutagénicos. En conclusión, una alteración de la fisiología normal aumenta el riesgo de que se origine un tumor maligno^{28,29}.

Respecto a la carcinogénesis, se dice que las enfermedades neoplásicas son el producto de un crecimiento normal autónomo de las células. Debido a la desaparición de la regulación crítica en la fisiología celular como la proliferación, diferenciación y la muerte celular programada. Sin el control necesario de estos procesos, las células neoplásicas se empiezan a disparar y se producen en gran cantidad haciendo que invaden estructuras cercanas y que se trasladen a otros órganos (metástasis)²⁹. En base a la historia natural de la enfermedad neoplásica, todo ocurre en manera secuencial. Y así tenemos el primer paso *Inicio*: Es la exposición a agentes mutagénicos que afectan directamente al DNA. El segundo paso es la *Promoción*: Es el escenario en el cual las células expuestas empiezan a proliferar y en esa cadena puede haber mutaciones esporádicas que creen otros tipos de células malignas. Y por último tenemos a la *Progresión*: Es el escenario en el cual se ve la extensión de las nuevas células neoplásicas malignas adyacentes y en algunos casos en otros órganos²⁸.

La caracterización de las alteraciones malignas está relacionada con los mecanismos del homeostasis celular, y tenemos en *primer lugar*: El crecimiento normal con desaparición de respuesta por parte de los reguladores. En *segundo lugar*: Existe un fenotipo invasivo y, *en tercer lugar*: El sistema inmunológico evade la destrucción del tumor. Por lo tanto, los trastornos de la regulación del crecimiento se cree que parte de una célula progenitora, origen clonal^{28,29}.

El camino de un tejido normal a la malignidad se da en varias etapas. En primera instancia tenemos a la displasia, la cual da inicio a las modificaciones en forma, tamaño y organización. Debido a una inflamación prolongada a la exposición de toxinas o cáusticos ambientales. En el sentido de la desalineación de las estructuras celulares se puede clasificar como leve, moderada o severa²⁴.

La proliferación de las células en cierta parte las células con displasia tienen un cierto rol. Por lo que, se puede hacer una acción reversible siempre en cuando se aleje al individuo ante a la exposición de carcinógenos y/o toxinas mutagénicas. No obstante, cuando hay una displasia severa es un paso seguro al cáncer debido a la falta de intervencionismo profiláctico. Muy pocas veces pasa a un estado regresivo y pasa hacia un estado de carcinoma tipo adenocarcinoma en un periodo de 18 meses siendo el 75% de los casos totales^{24,28}.

Algo que caracteriza a los carcinomas es su capacidad para entrar a la membrana basal y extenderse sin interesar los límites de la estructura celular normal^{28,29}. El tumor invasivo o carcinoma agresivo es definido como una enfermedad local ya que hay una diseminación una vez atraviesa la membrana basal hacia el drenaje del sistema linfático. Cuando hablamos de una enfermedad regional es cuando las células neoplásicas recorren por del sistema linfático. Y en la etapa máxima, ya una etapa muy comprometida, es cuando se hace la metástasis, es decir cuando las células malignas neoplásicas se hallan en otros órganos lejanos al tumor de origen local²⁸.

Por otro lado, tenemos las condiciones premalignas. Los cambios en la mucosa gástrica aumentan el riesgo de cáncer y lo más representativos son los pólipos

gástricos, la metaplasia intestinal y la gastritis atrófica^{23,24}. Hay muchos estudios que sustentan que la úlcera gástrica difícilmente progresa a un cáncer gástrico, la frecuencia de ello es baja y esto sucede también en Japón, que es un país con alta incidencia de úlcera gástrica y cáncer gástrico²³.

Respecto a la infiltración ganglionar hay un compromiso leve o grave de la enfermedad. Generalmente los carcinomas que se originan en el tercio proximal del estómago tienen una mayor cantidad de ganglios linfáticos más que los carcinomas en el tercio distal^{18,23}. Respecto a la metástasis, tenemos en primer lugar al hígado, donde el 95% de pacientes mueren en un periodo de un año sin resección del tumor primario, y en segundo lugar a los pulmones^{23,24}.

2.2.5. Detección de cáncer gástrico

El examen de primera línea es el examen endoscópico para detectar un cáncer gástrico. Ya que puede verse la lesión claramente y además de obtener una biopsia, muestra del tumor maligno presuntivo. Cuando se da una buena toma de muestra de la biopsia, respecto a las cantidades de muestras, hace que sea más exacto y la confirmación del diagnóstico de cáncer gástrico sea hasta 98% con 7 biopsias¹⁸. Cabe mencionar que cuando los tumores son menores de tres centímetros de diámetro en el cardias o en la curvatura menor, no es muy recomendable una biopsia sino un examen de citología por cepillado²³.

2.2.6. Aspectos clínicos patológicos del cáncer gástrico

Cuando hablamos de adenocarcinoma gástrico tenemos que es histológicamente heterogénea. Tenemos la clasificación de Lauren el cual hizo la división en intestinal, difuso e indiferenciado sin producción de moco³⁰. Desde el punto de vista anatómico, tenemos dos áreas, el proximal y el distal³¹. Y hoy en día tenemos más estudios en biología molecular teniendo una clasificación para este aspecto^{32,33}. Por lo tanto, la clasificación histológica y la anatómica se ven muy relacionadas a los hallazgos de las alteraciones moleculares y con estos conocimientos pueden proporcionar terapias más específicas³⁴.

Entonces el adenocarcinoma de tipo intestinal, según Lauren, se encuentra con mucha relación con la gastritis atrófica severa, las displasias la metaplasias intestinales y estas histológicamente se ve mayormente bien o moderadamente diferenciadas y su mayor característica es el origen de células glandulares similares a las células intestinales. Anatómicamente, en el antro se encuentra la metaplasia intestinal³⁵. Por otro lado, el adenocarcinoma tipo difuso está relacionado con una variedad de infiltración, pobremente diferenciado con presencia de células en anillo de sello, pero sin presencia notable de una gastritis³⁶.

Cuando hablamos de un tumor maligno de origen epitelial lo llamamos carcinoma. El carcinoma del estómago por ser adenoescamosos se les llama muy seguido como adenocarcinoma. Cabe resaltar que los tumores escamosos son infrecuentes³⁵.

2.2.7. Cáncer avanzado

Este cáncer ya tiene un escenario en las capas musculares del estómago y en ese sentido Bormann, en el año 1926, los señaló como tipo I, II, III y IV. Aunque a veces hay denominaciones tipo V para señalar un tipo no clasificable o muy avanzado la cual Bormann no lo clasificó. En otras bibliografías encontraremos como clasificación Bormann I, II, III o IV³⁵.

Tabla 1. Características de los tipos I, II, III y IV (Bormann)

Características	Tipo I y II	Tipo III y IV
Límites	Bien definidos	Sin límites precisos
Localización	Antro	Más en fondo que en antro
Diferenciación	Diferenciados	Indiferenciados
Acidez	Baja o aclorhidria	Hipo aclorhidria o normal
Pronostico	Mejor	Peor
Sexo	Más en hombres	Más en mujeres
Edad	Más edad	Menos edad
Metástasis	Hemática	Linfática

(Clasificación de los adenocarcinomas de estómago. Rev. Gastroenterológica, Perú)
Fuente: Tomado de Hernán Espejo Romero y Jesús Navarrete Siancas (2003)

2.2.8. Clasificación histológica

Gracias al científico A. Broders, nos comenta por primera vez sobre el fundamento de la diferenciación celular de los adenocarcinomas. Con más detalle en el artículo titulado “Carcinoma y otras lesiones malignas del estómago: Consideraciones anatómo patológicas”, donde comenta como se forman las células y evolucionan con signos de malignidad estableciendo los adenocarcinomas de grado uno, dos, tres y cuatro³⁵.

A. Broders nos comenta que la graduación microscópica numérica del carcinoma se basa en el principio fundamental de la diferenciación celular, y es absolutamente independiente de la historia clínica y de los datos anatomopatológicos macroscópicos. En otras palabras, los que apoyamos este principio, sostenemos que cuanto mayor es la tendencia de las células de un carcinoma a aproximarse a la estructura normal de las células de las que descienden o con las que están relacionadas, menor es la malignidad del carcinoma; inversamente, cuanto mayor es la desviación de la normalidad, más elevada es la malignidad del carcinoma³⁵.

2.2.9. Clasificación de la OMS

Según la OMS tenemos a los adenocarcinomas de tipo papilar tubular uno, dos, tres que a su vez se les describe como bien, moderadamente y pobremente diferenciado respectivamente. También tenemos los adenocarcinomas con células en anillo, mucinosos, indiferenciados, y entre otros menos frecuentes como los adenopavimentosos, pavimentosos, tumores carcinoideos y miscelánea³⁷.

En otras palabras, los adenocarcinomas papilares y tubulares uno y dos, se les considera como diferenciados, teniendo en cuenta su origen tisular. Por otro lado, los adenocarcinomas como las células en anillo, los mucinosos y los indiferenciados propiamente dicho están considerados como adenocarcinomas indiferenciados³⁷.

Como es de notar, en la práctica clínica, es de usar cotidianamente la clasificación por la OMS sobre todo por los patólogos oncológicos por ser fácil de reproducir³⁷.

2.2.10. Estadío Clínico

El estadío clínico es la determinación de la etapa del cáncer después que haya sido diagnosticada con fundamentos de clínica, imágenes y laboratorios. Este procedimiento describe que tanto se ha extendido el cáncer en el cuerpo y nos da una idea de que procedimiento profiláctico se debe seguir. Es también de utilidad para pronunciarse sobre la supervivencia del paciente³⁸.

El *carcinoma in situ* se establece cuando el cáncer de estómago está en una etapa muy temprana, es decir cuando no ha alcanzado extenderse. Cuando se encuentra un tumor grande, y se ve que ha alcanzado ganglios e incluso a otros órganos entonces se le da la calificación de estadio clínico I, II, III o IV según evaluación, siendo este último el cáncer con metástasis. Si bien la experiencia del cáncer de cada persona es única, los cánceres con etapas similares suelen tener un pronóstico similar, y a menudo son tratados de manera muy similar³⁸.

2.2.11. *Helicobacter pylori*

En el año 1983, los científicos J. Warren y B. Marshall publicaron en la revista médica británica Lancet la respuesta a una variedad de patologías gástricas al encontrar un bacilo no identificado en el epitelio gástrico. Esta bacteria era la causal de la gastritis crónica activa y en un principio se le llamó *Campylobacter pylori*, pero hoy en día se le conoce como la famosa *H. pylori*. Entonces tiempo después la OMS declaró a esta bacteria como un carcinogénico gástrico en el año 2001. Posteriormente para el año 2005 los descubridores de esta bacteria fueron galardonados con el Premio Nobel en Medicina por su gran aporte a la ciencia de la salud. Hoy en día el tema del *H. pylori* y su relación con las patologías gástricas y sobre todo con el cáncer son tópicos de varios estudios que se han hecho y siguen haciéndose³⁹.

Respecto a su caracterización del *H. pylori*, se sabe que tiene una secuencia de ARNr 16S en su genética, una composición rica en ácidos grasos y presencia de flagelos polares, los cuales nos permiten clasificar a esta bacteria. Por lo que hasta ahora se conoce a 30 cepas. La bacteria tiene una forma espiral o en bacilos en cultivos tempranos, que aproximadamente es en una medida de 0.5 por 2,4 μm), sin embargo, a veces adopta en forma de cocos en los cultivos de mayor tiempo⁴⁰. Esta bacteria es muy móvil gracias los flagelos polares y que producen la ureasa. Teniendo estas propiedades es de vital importancia para que pueda sobrevivir en el jugo gástrico y su movimiento rápido hace que se infiltre rápidamente a través de la mucosidad epitelial del estómago hacia un pH neutro. Bioquímicamente los *H. pylori* son catalasa y oxidasa positivos; y en relación con los carbohidratos no presentan reacción de fermentación u oxidación. Sin embargo, llegan a metabolizar aminoácidos a través de quince vías de fermentación. Estructuralmente en la membrana externa se encuentran los liposacárido (LPS), en el cual el lípido A es un oligosacárido central con una cadena lateral O. Este lípido presenta una baja actividad de endotoxina en comparación con otras bacterias gramnegativas, y en contraste la cadena lateral O posee una característica antigénica de los antígenos del grupo de Lewis de la sangre, por lo que hace que las bacterias estén libres de la actividad inmunitaria del individuo huésped⁴¹.

Respecto a la prevalencia del *H. pylori*, ha habido una gran investigación desde que se aisló esta bacteria por primera vez en 1983. Es así como en los países en vías de desarrollo, según varias publicaciones, hay un rango de 70 a 90 por ciento de la población infectada con la bacteria, y se sabe que, desde la temprana edad, aproximadamente menores a 10 años ya se encuentran pacientes viviendo con la bacteria⁴⁰.

2.2.12. Genes de colonización

La colonización del *H. pylori* es de destacar, ya que puede permanecer mucho tiempo en los estómagos de los pacientes no tratados. Es así como podemos describir la inflamación, alteración en la síntesis del ácido gástrico y la destrucción

de los tejidos hace una conspicua la presencia del *H. pylori*. Para explicar la colonización tenemos 3 fases iniciales, la primera, es el bloqueo de la síntesis de ácidos grasos consecuencia de la actividad de la proteína inhibidora del ácido de la bacteria; la segunda, tenemos la neutralización de los ácidos gástricos por el NH₃ que se produce debido a la enzima ureasa del *H. pylori*⁴².

La enzima característica del *H. pylori*, es la ureasa, el cual representa el 5% del total de proteínas celulares y es una de las candidatas para estudios de ciencia básica como es la biología molecular⁴². Gracias a esta enzima es que la bacteria puede vivir en el medio ácido del estómago a través de una transformación de urea gástrica en NH₃ y así crecer con toda tranquilidad⁴³. La ureasa tiene localización tanto en el citoplasma como en la membrana externa, sin embargo, esta última puede tratarse para un mecanismo no específico del traslado de la enzima hacia el exterior. La ureasa tiene un peso molecular de 600 kilos Dalton y en su genética tiene una codificación de 7 genes llamados *ureA*⁴⁴.

Las proteínas de choque térmico más conocidas como las proteínas “hsp”, que se encuentran en la membrana del *H. pylori*, cuya función es el reconocimiento de los receptores celulares del huésped para la adherencia de la bacteria. Estas proteínas tienen un papel importante para la adherencia que depende de las condiciones de acidez del ambiente en el que están, por lo tanto, en el medio epitelial del estómago hay una interacción importante que puede realizar la bacteria para colonizar y sobrevivir en el individuo huésped⁴⁴.

2.2.13. Genes de virulencia

La citotoxina asociada al gen A (*cagA*) y la citotoxina vacuolizante (*vacA*) son factores de virulencia de *H. pylori* que tienen múltiples efectos sobre la célula epitelial humana⁴⁵.

Una de las funciones dañinas del *H. pylori* es la producción de vacuolas en células eucariotas. En un principio no estaba establecido como un comportamiento tóxico, ya que no era reducido por las antitoxinas bacterianas, en adición, el NH₄ liberado

por la actividad de la ureasa suele producir un efecto similar. Tiempo después, se logró aislar la toxina que fuera la responsable de la síntesis de vacuolas, hoy conocida como la “toxina vacuolizante”. En la práctica clínica, específicamente en las biopsias de los pacientes infectados con la bacteria, se han encontrado anticuerpos en suero^{46,47}.

Las lesiones al nivel del tejido gástrico se deben a factores como los productos generados por la ureasa, la mucinasa, la fosfolipasa y la actividad de la citotoxina vacuolizante tipo A (VacA), esta última proteína entra a las células epiteliales por endocitosis, y aporta gran daño en las células gracias a la alta producción de vacuolas⁴¹.

Fisiopatológicamente, la toxina VacA induce a la vacuolización, seguido de la apoptosis y ayuda con la inhibición de la división celular^{48,49}. Se ha encontrado que todas las bacterias del *H. pylori* llevan en su genética al gen *vacA*, que es de tipo polimórfico en la región señal, que a su vez presenta alelos como los s1a, s1b, s1c, y s2; además tiene una región media, las cuales presenta alelos m1 y m2. Entonces lo que podemos decir es que siempre habrá un alelo s y un alelo m en la estructura genética de la proteína VacA y que dependiendo de la secuencia la actividad vacuolizadora será leve moderada o grave. La cepa con *vacA s1m1* está asociada a una patología de las células gástricas más severa^{48,50}. Hay estudios en los cuales nos mencionan a la úlcera péptica como la patología gástrica más frecuente en pacientes infectados por *H. pylori*. Y que encontraron más cepas *s1* versus las cepas *s2*⁵¹. Siempre en cuando la región media aparentemente tiene un papel importante en la interacción con las células del estómago que con la acción tóxica propiamente dicha⁵².

Más adelante, había un cabo suelto que no explicaba por completo la toxigenicidad de la bacteria, es por ello que se encontró el gen asociado a la citotoxina (*cagA*), la cual tiene una relación estrecha con la expresión del gen *vacA* respecto a lo que es la actividad tóxica en las células gástricas del huésped infectado por la *H. pylori*. Es importante mencionar que, a diferencia del gen *vacA*,

el *cagA* se ha encontrado solo en pacientes con sintomatología declarada en las consultas⁵³.

Respecto a la capacidad para producir patogenicidad, la cepa *cagA* positivo está muy asociadas con la ulceración duodenal, la gastritis atrófica y sobre todo con el adenocarcinoma que se ha demostrado que producen una inflamación intensa al nivel del antro gástrico con una intensidad de 5 veces mayor que las cepas de *cagA* negativas⁵⁴.

Respecto a la fisiopatología del gen *cagA*, se sabe que se encuentra en un islote de patogenicidad llamado PAI (fosforribosilantranlinatoisomerasa) Cag que en su estructura contiene treinta genes aproximadamente. Entonces una vez la bacteria dentro del huésped existe un sistema de secreción llamado tipo IV el cual hace que la proteína CagA ingresa a las células epiteliales del estómago y altera rápidamente la estructura del citoplasma celular del individuo infectado^{48,54}. Todo esto procede en un principio cuando se activan las vías de señalización intracelulares, que, en consecuencia, se produce la activación de los factores de transcripción que inducen la expresión de las citocinas pro inflamatorias, a la infiltración de las células inmunes, al daño en las uniones entre las células y al cambio de polaridad y permeabilidad de la célula epitelial gástrica⁴⁹. Otra característica a resaltar, es que los genes PAICag también colaboran con la síntesis de interleucina 8, lo que se conoce como IL-8, cuya función es la de requerir los neutrófilos como un llamado de acción lo que generará una actividad autoinmune. Además, se cree que la liberación de proteasas y moléculas reactivas de oxígeno por los neutrófilos da como consecuencia la formación de úlceras pépticas y la gastritis⁵⁵.

2.2.14. Relación entre *H. pylori* y el cáncer gástrico

La relación entre la bacteria y el cáncer gástrico ha sido ampliamente descrita en diversos estudios a nivel mundial. En 1975 se asoció la presencia de *Helicobacter pylori* con la inflamación de la mucosa gástrica y posteriormente en 1985 con la úlcera péptica, estableciendo de este modo una relación causal entre *Helicobacter*

pylori y las lesiones de la mucosa gástrica⁵⁶. Además, existe un riesgo para llegar a causar cáncer gástrico del 75%. Esto hace vital su detección temprana con la finalidad de dar tratamiento⁵⁷.

La infección por *H. pylori* origina una gastritis superficial y si se convierte en un cuadro crónico puede aparecer atrofia, que es una condición precancerosa. En 1994 la Agencia Internacional para la Investigación en Cáncer de la Organización Mundial de la Salud incluyó al *H. pylori* como agente biológico carcinogénico para el hombre (categoría 1) basándose en evidencias epidemiológicas que le asocian con cáncer gástrico⁵⁸.

2.2.15. Estado actual de *H. pylori* en la ciudad de Lima metropolitana

En un estudio realizado en el Hospital Hipólito Unanue en Lima, Perú. Se evaluó a 300 pacientes de los cuales el 93% fueron identificados la presencia del *H. pylori* con una variedad de patologías gástricas confirmando así que la bacteria sigue siendo un problema de salud pública en Lima Metropolitana⁵⁹.

III. METODOLOGÍA DE TRABAJO

Es un estudio observacional, descriptivo, prospectivo y transversal. El desarrollo del presente estudio se llevó a cabo en el Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas, en los laboratorios de Biología Molecular y el Banco de Tejidos Tumorales, Departamento de Investigación de la institución.

3.1. Aprobación del proyecto y consentimiento Informado

El presente estudio forma parte del trabajo de Investigación: “ANÁLISIS DE LA METILACIÓN PRODUCIDA POR LOS AGENTES INFECCIOSOS CAUSANTES DEL CÁNCER GÁSTRICO Y SU INTERACCIÓN CON SISTEMA INMUNE DEL HUÉSPED “, el cual ha sido aprobado por los miembros del Comité revisor de Protocolos, a través de la carta N°025-2016-CRP-DI-DICON/INEN, del Departamento de Investigación del INEN (Anexo 1) y posteriormente fue aprobado, junto con el consentimiento informado, a través de la carta N°139 -2016-CIE/INEN, por el Comité Institucional de Ética en Investigación del INEN (Anexo 2).

3.2. Diseño de Ficha de Recolección de Datos

El diseño de la Ficha de Recolección de Datos (Anexo 3) contiene la información epidemiológica y clínica de los pacientes

3.3. Población de estudio

Se estableció un récord de pacientes solamente con diagnóstico confirmado de cáncer gástrico, cuyo tumor sea primario para el estómago, mediante la revisión de las historias clínicas de los pacientes atendidos en el Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas en el periodo 2016-2017.

Los criterios de inclusión para la selección de pacientes para el presente estudio fueron:

- Pacientes que tuvieron cirugías de resección de estómago (gastrectomías). Procedimientos realizados por los especialistas del Departamento de Abdomen del INEN en el periodo 2016-2017.
- Pacientes del INEN de ambos sexos, femenino y masculino.
- Pacientes del INEN que residen en Lima metropolitana
- Pacientes del INEN que son mayores de 18 años
- Pacientes del INEN, con la disposición de haber completado la ficha de recolección de datos y firmado el consentimiento informado para la donación voluntaria de una muestra biológica durante su procedimiento.

Los criterios de exclusión para la selección de pacientes para el presente estudio fueron:

- Pacientes del INEN con diagnóstico patológico de neoplasias malignas diferentes al adenocarcinoma de estómago.
- Pacientes del INEN menores de edad (18 años).
- Pacientes del INEN cuyo tumor primario tenga otra localización que no sea en el estómago.
- Pacientes del INEN con infección activa para VIH, VHB o VHC.
- Pacientes del INEN con diagnóstico de adenocarcinoma gástrico sin resección del tejido tumoral, es decir una cirugía sin éxito.

3.4. Revisión de historias clínicas

Se consideró los siguientes aspectos clínicos patológicos: Estadio clínico, subtipo histológico, grado histológico, Bormann, localización tumoral y compromiso ganglionar.

Se usó el software SISINEN v.2.0 del Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas para recolectar los datos mencionados anteriormente.

3.5. Procedimiento de recolección de datos

El modo de recolección de datos está basado en una Ficha de Datos que consta de un cuestionario de 08 preguntas que se le ha realizado a un

estimado de 118 pacientes aproximadamente con diagnóstico de cáncer gástrico. La Ficha de Datos es un instrumento que sirvió para recoger datos que operan las variables objeto de observación e investigación, por ello las preguntas del cuestionario son los indicadores. Las preguntas son cerradas y abiertas para que el paciente tenga la opción de brindarnos más información. La información ya recogida fue mediante una entrevista personal; nos permitió elaborar una base de datos para ser llevados a un análisis estadístico.

La ficha de recolección de datos fue evaluada por miembros del INEN y UNMSM, está conformada por 4 secciones: Consentimiento informado, datos personales, antecedentes personales y familiares.

3.6. Determinación de las zonas de alto y bajo riesgo

Se hizo una adaptación del Registro de Cáncer de Lima Metropolitana periodo 2010-2012⁴, cruzándose ambos sexos para obtener un solo mapa el cual permita visualizar las zonas de riesgo para cáncer gástrico en la población de Lima, donde la alta tasa de incidencia de cáncer gástrico por cada 100 000 habitantes se determinó para alto riesgo y una baja de tasa de incidencia para la zona de bajo riesgo^{4,9}.

La zona de alto riesgo son los distritos Cercado de Lima, Ate, Breña, Chaclacayo, El Agustino, Jesús María, La Victoria, Lince, San Juan de Lurigancho, Villa El Salvador, Santa Anita y Callao porque presentan una tasa de incidencia de 17,34 a 30,17 por 100 000 habitantes. Se puede apreciar en rojo los distritos mencionados (Figura 1).

La zona de bajo riesgo son los distritos no mencionados anteriormente ya que presentan una incidencia de menos de 10 casos a 24,51 por 100 000 habitantes. Se puede apreciar en color amarillo (Figura 1).

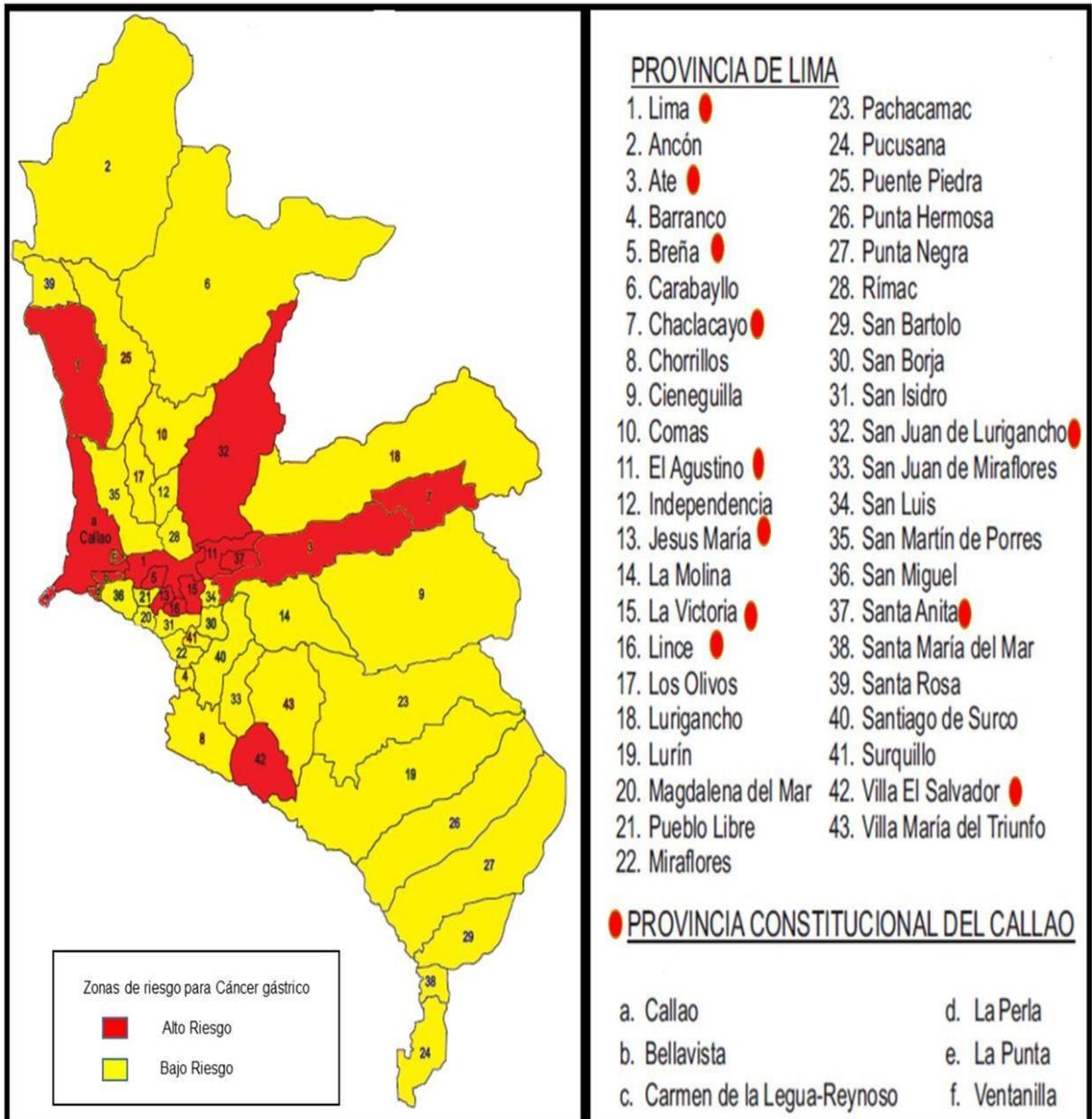


Figura 1. Zonas de riesgo para cáncer gástrico por distrito 2010-2012

3.7. Obtención de la muestra biológica

Luego de revisar los consentimientos informados se procedió a recolectar las muestras biológicas.

Las muestras fueron pequeñas piezas quirúrgicas de aproximadamente 5 mm de las secciones tumorales y no tumorales (próxima y distal) del estómago extirpadas de los pacientes luego de sus operaciones. Para ello se coordinó con el Departamento de Patología del INEN para obtener dicha muestra quirúrgica inmediatamente terminada la operación y sin ningún

químico preservante. Las piezas quirúrgicas se recolectaron en unos criotubos especiales, a su vez fueron transportadas en hielo para que puedan ser almacenadas en congelación (-80°C), en el Banco de Tejidos Tumoraes del INEN con un código designado por este. El nombre, la historia y tipo de muestra biológica quedaron registrados en el Banco de Tejidos Tumoraes como antecedentes.

3.8. Extracción del ADN de las muestras

El proceso de extracción de DNA total de las piezas quirúrgicas se realizó en el Laboratorio de Biología Molecular, instancia que pertenece al Banco de Tejidos Tumoraes del INEN. Se procedió de acuerdo al kit comercial QIAmp DNA Mini Kit (Qiagen, Germany). Las piezas quirúrgicas fueron pesadas con un valor de 25 mg, luego fueron colocadas en microtubos de 1.5 mL estériles. Se cortó el tejido en trozos pequeños con una tijera quirúrgica, luego se añadió 180 µl de tampón ATL y 20 uL proteinasa K y fueron incubadas a 56°C a 4000 rpm hasta observar lisis completa del tejido (3 horas); luego para obtener DNA total libre de RNA se agregó 20 uL de RNase A y se incubó a temperatura ambiente por 2 minutos; luego se agregó 200 uL de *Buffer AL* y se mezcló mediante el vórtex por 15 segundos y la mezcla se incubó a 70 C° por 10 minutos. Luego se agregó etanol al 100% y se mezcló mediante vórtex por 15 segundos. Toda la mezcla se transfirió a la columna y se centrifugó a 8000 rpm por 1 minuto. Se descartó lo colectado; luego para el proceso de lavado se agregó 500 uL del *Wash Buffer 1 dentro de la columna y se centrifugó a 8000 rpm por 1 minuto.*; luego se realizó el mismo proceso con el *Wash Buffer 2*. Finalmente para la elución se utilizó por 45 uL de Buffer AE; luego se repitió el proceso para conservar la muestra eluida a 20C°.

3.9. Cuantificación del ADN de las muestras

Este procedimiento se llevó a cabo en el Laboratorio de Biología Molecular, instancia que pertenece al Banco de Tejidos Tumoraes del INEN. Un paso importante para demostrar la pureza de la extracción del ADN total se dio a través de la espectrofotometría. La relación de longitudes A260/A280 con

resultado aproximado a 1.80 indica el grado de pureza extraída. La ABS a la longitud 260 nm expresa la concentración en ng/uL y con ello se pudo establecer que las extracciones de DNA se realizaron con una adecuada manipulación. El equipo que se utilizó, fue el NanoDrop™ 2000/2000c Spectrophotometers (Thermo Fisher Scientific), un equipo de alta sensibilidad.

Se pipeteó 1 uL del DNA directamente en el pedestal de medición. Luego se inició la medición espectral bajo el brazo de muestreo usando el software en la PC. La tensión superficial se utiliza para mantener las muestras en su lugar entre dos fibras ópticas. Finalmente al terminar la medición se limpió el lente para la próxima muestra.

3.10. Genotipado del *H. pylori* mediante PCR

El método para hacer la genotipificación de los genes colonizadores y de virulencia del *H. pylori* fue el PCR cuantitativo (qPCR) el cual realiza reacciones en cadena y en tiempo real. El equipo utilizado fue el *Termociclador LightCycler® 96 Instrument (ROCHE®)*. Para este procedimiento se tuvo en cuenta lo indicado en el Laboratorio de Biología Molecular el cual consta que la reacción contenga 1X *FastStart Essential DNA Green Master*, 400mM del cebador sentido, 400mM del cebador antisentido, 2µL de dilución correspondiente de DNA y agua libre de nucleasas hasta completar un volumen final de 20 µL. Las temperaturas *Melting* fueron consideradas para las reacciones de cada cebador.

Se emplearon cinco pares de cebadores específicos para *Helicobacter pylori* pertenecientes a 4 grupos de genes, 2 de factores de colonización y 2 de virulencia.

Tabla 2. Cebadores con los segmentos de las secuencias sentido y antisentido utilizadas para detectar el *H. pylori* y Temperatura de fusión (T_m, del inglés Melting temperature) de cada cebador.

GEN	CEBADORES	SECUENCIA	T _m
hspA	hspA R	GCTATCTGAAAATTTGATTTCTTTTGC	59-62
	hspA F	TGCGCTATAGTTGTGTGTCGC	
ureA	ureA R	TTGTCTGCTTGTCTATCAACC	55-58
	ureA F	GAGAATGAGATGAAACTCACCC	
vacAs	VA1 R	CTGCTTGAATGCGCCAAAC	52-63
	VA1 F	ATGGAAATACAACAAACACAC	
vacAm	VAG R	GCGTCAAATAATTCCAAGG	52-63
	VAG F	CAATCTGTCCAATCAAGCGAG	
cagA	cagA R	TCTAATCCTGTTTGCTCCCA	62-64
	cagA F	CTCATTGCGAAGGCGACCT	

3.11. Condiciones y procesamiento de la PCR

La detección de la señal se realizó al finalizar el paso de elongación de la reacción. Las condiciones de la qPCR fueron: (i) 95°C 10 min; y (ii) 95°C 15s, 60°C 20s, 72°C 20s (45 ciclos). La temperatura de fusión (T_m (50mN Na⁺)) varió dependiendo del cebador utilizado en la qPCR de la siguiente manera: ureA del gen de Ureasa, R (55°C) y F (58°C); hspA del gen codificante de la proteína de shock térmico, R (62°C) y F (59°C). Los genes de virulencia relacionados a la citotoxina vacuolizante: vacA-s, R (52°C) y F (63°C); vacA-m, R (52°C) y F (63°C). El gen de virulencia asociado a la citotoxina: cagA, R (62°C) y F (64°C).

Todas las reacciones incluyeron un control, donde la muestra se sustituyó por agua. Para garantizar la funcionalidad de los cebadores se realizaron pruebas de estandarización. Como control positivo se empleó ADN genómico (ADNg) de la cepa 706557 de *Helicobacter pylori* obtenida de la ATCC.

Las curvas estándar para cada pareja de cebadores se realizaron empleando el control positivo de ADNg *H. pylori*. Para ello se realizaron 10 diluciones seriadas

del control positivo partiendo de una concentración inicial de 13335 copias/uL de DNA bacterial. Se prepararon las reacciones de PCR con el molde de DNA bacterial de cada dilución por duplicado.

Los resultados de la PCR fueron visualizados en el Software LightCycler® 96 Instrument Manager versión SW 1.1 (Roche).

Los datos obtenidos en estas reacciones en el PCR tiempo real se organizaron en una hoja de cálculo de Excel 2010 (Microsoft Office Professional Plus 2010) obteniendo los valores logarítmicos de la concentración de las 10 diluciones del control positivo y los valores promedios de los ciclos de cuantificación (Cq). Estos datos permitieron la construcción de una curva de regresión lineal y una ecuación para calcular concentraciones de cada gen.

Los resultados de las muestras procesadas en el PCR en tiempo real se transfirieron y organizaron en hojas de cálculo Excel. Se despejaron las ecuaciones para cada gen obtenidas en las curvas de estandarización y se sustituyeron los datos de Cq para obtener el logaritmo de las concentraciones obtenidas. Se realizaron cálculos antilogarítmicos para obtener las concentraciones en copias/uL. Los datos se clasificaron por gen y por paciente.

3.12. Procesamiento de datos y análisis estadístico

Para preservar la confidencialidad del paciente se procedió a crear 2 bases de datos usando el programa Excel (Microsoft Corporation, EEUU), la primera base contuvo la información de la ficha de recolección de datos y se le generó a cada paciente un código para identificarlo de los demás. La otra base de datos solo tuvo los códigos de los pacientes y los resultados de laboratorio obtenidos.

Se aplicó un análisis estadístico usando el software especializado SPSS v25. En el cual, se emplearon dos pruebas, la de chi- cuadrado y la de t-student donde solo se evaluó la significancia de la distribución de genes de colonización y virulencia en relación con las variables epidemiológicas y clínico patológicas de las zonas de alto y bajo riesgo de cáncer.

IV. RESULTADOS

4.1. Características de los pacientes en los aspectos epidemiológicos con diagnóstico de cáncer gástrico

Un total de 118 pacientes conformó la población de estudio (con cáncer gástrico). La mediana de edad fue de 66 años (29-94 años). La población masculina fue la más frecuente (56,78%). (Tabla 3).

Tabla 3. Características epidemiológicas de los pacientes diagnosticados con cáncer gástrico

CARACTERÍSTICAS	(n=118)	(%)
EPIDEMIOLOGICAS		
EDAD		
Mediana	66	
Rango	(29-94)	
SEXO		
Femenino	51	43,22%
Masculino	67	56,78%

4.2. Características de los pacientes en los aspectos clínico-patológicos con diagnóstico de cáncer gástrico

Una gran parte de la población no tiene antecedentes gástricos y otros con antecedentes de gastritis (54,24% y 32,20%, respectivamente). Solo el 3,39% de la población tiene antecedentes familiares con cáncer de estómago. Los estadíos clínicos más frecuentes fueron los II y III (38,98% y 37,29%, respectivamente). Los tipos subhistológicos más frecuentes fueron el adenocarcinoma con células en anillo y el adenocarcinoma tubular (38,98% y 41,53%, respectivamente). El grado histológico 3 fue el más frecuente (44,07%). La clasificación Bormann III fue la más frecuente (58,47%). La localización del tumor más frecuente fue el Antro y el

Cuerpo (56,78% y 30,51%, respectivamente). Se observa también que hay una gran proporción de la población con compromiso ganglionar (72,03%). (Tabla 4)

Tabla 4. Características clínico patológicas de los pacientes diagnosticados con cáncer gástrico

CARACTERÍSTICAS	(n=118)	(%)
CLÍNICO-PATOLÓGICAS		
ANTECEDENTES PERSONALES		
Sin antecedentes gástricos	64	54,24%
Problemas gástricos permanentes	5	4,24%
Gastritis	38	32,20%
Úlceras	11	9.2%
ANTECEDENTES FAMILIARES		
Sin Información	5	4,24%
Cáncer Gástrico	4	3,39%
Sin Cáncer Gástrico	109	92,37%
ESTADÍO CLÍNICO		
I	22	18,64%
II	46	38,98%
III	44	37,29%
IV	6	5,08%
SUBTIPO HISTOLÓGICO (OMS)		
Adenocarcinoma mixto	15	12,71%
Adenocarcinoma mucinoso	6	5,08%
Adenocarcinoma con células en anillo	46	38,98%
Adenocarcinoma tubular	49	41,53%
Carcinoma indiferenciado	2	1,69%

Tabla 4. Características clínico patológicas de los pacientes diagnosticados con cáncer gástrico

GRADO HISTOLÓGICO		
G0	3	2,54%
G1	16	13,56%
G2	30	25,42%
G3	52	44,07%
G4	17	14,41%
BORMANN		
I	6	5,08%
II	15	12,71%
III	69	58,47%
IV	22	18,64%
V	6	5,08%
LOCALIZACIÓN TUMORAL		
Antro	67	56,8%
Cuerpo	36	30,51%
Fondo	3	2,54%
Otros	12	10,17%
COMPROMISO GANGLIONAR		
Positivo	85	72,03%
Negativo	33	27,97%

4.3. Características de los pacientes en el aspecto molecular con diagnóstico de cáncer gástrico

En el aspecto molecular tenemos que los genes de colonización, *hspA* y *ureA*, hay una prevalencia de 57,63% y 55,93%, respectivamente. Considerando los pacientes que tuvieron infección por *H. pylori* (colonización), se observó 75 casos siendo el 63,56% de la población. En los genes de virulencia se observa que los infectados con los genotipos *cagA+* y *vacA+* presentaron una prevalencia de 90,67% y 88%, respectivamente. (Tabla 5).

Tabla 5. Características moleculares de los pacientes diagnosticados con cáncer gástrico

CARACTERÍSTICAS	(n=118)	(%)
MOLECULARES		
GENES DE COLONIZACIÓN		
<i>hspA</i>		
Positivo	68	57,63%
Negativo	50	42,37%
<i>ureA</i>		
Positivo	66	55,93%
Negativo	52	44,07%
COLONIZACIÓN		
Si	75	63,56%
No	43	36,44%
GENES DE VIRULENCIA		
n=75		
%		
<i>cagA</i>		
Positivo	68	90,67%
Negativo	7	9,33%
<i>vacA</i>		
Positivo	66	88,00%
Negativo	9	12,00%

4.4. Características epidemiológicas de los pacientes para las dos áreas geográficas con riesgo opuesto

Un total de 48 pacientes estaban dentro de la zona de alto riesgo (AR) y 70 pacientes en la zona de bajo riesgo (BR) de cáncer gástrico. La mediana de edad fue 65 años para la zona AR y 66 años para la zona BR. La distribución en los sexos obtuvo resultados significativos ($p < 0,05$), 54,17% era el porcentaje de pacientes femeninos más frecuentes en la zona AR, 64,29% era el porcentaje de varones más frecuentes para la zona BR. (Tabla 6).

Tabla 6. Características epidemiológicas de los pacientes en las zonas de Alto Riesgo (AR) y Bajo Riesgo (BR) con cáncer gástrico

CARACTERISTICAS	AR (n=48)	(%)	BR (n=70)	(%)	p valor
EPIDEMIOLOGICAS					
EDAD					
Mediana	63.5		69		0,565
Rango	(31-81)		(29-94)		
SEXO					
Femenino	26	54,17%	25	35,71%	0
Masculino	22	45,83%	45	64,29%	

4.5. Características clínico-patológicas de los pacientes para las dos áreas geográficas con riesgo opuesto

La distribución de los antecedentes personales obtuvo resultados significativos ($p < 0,05$), ya que se observó una mayor frecuencia de pacientes sin antecedentes gástricos en ambas zonas de riesgo, AR y BR, 45,83% y 50%, respectivamente. (Tabla 7).

Tabla 7. Características clínico patológicas de los pacientes en las zonas de Alto Riesgo (AR) y Bajo Riesgo (BR) con cáncer gástrico

CARACTERISTICAS	AR (n=48)	(%)	BR (n=70)	(%)	p valor
CLÍNICO-PATOLÓGICAS					
ANTECEDENTES PERSONALES					
Sin antecedentes gástricos	22	45,83%	35	50,00%	0
Gastritis	16	33,33%	19	27,14%	
Úlceras	0	0,00%	2	2,86%	
Otros	10	20,83%	14	20,00%	

Tabla 7. Características clínico patológicas de los pacientes en las zonas de Alto Riesgo (AR) y Bajo Riesgo (BR) con cáncer gástrico

ANTECEDENTES FAMILIARES					
Cáncer	1	2,08%	3	4,29%	0,553
Sin Cáncer	44	91,67%	65	92,86%	
Sin Conocimiento	3	6,25%	2	2,86%	
ESTADÍO CLÍNICO					
I-II	30	62,50%	38	54,29%	0,375
III-IV	18	37,50%	32	45,71%	
GRADO HISTOLÓGICO					
G0-G1-G2	23	47,92%	26	37,14%	0,243
G3-G4	25	52,08%	44	62,86%	
BORMANN					
I-II	14	29,17%	11	15,71%	0,079
III-IV	34	70,83%	59	84,29%	
LOCALIZACIÓN TUMORAL					
Antro	26	54,17%	41	58,57%	0,585
Cuerpo	17	35,42%	19	27,14%	
Otros	5	10,42%	10	14,29%	
COMPROMISO GANGLIONAR					
Positivo	32	66,67%	53	75,71%	0,282
Negativo	16	33,33%	17	24,29%	

4.6. Distribución de los genes de colonización y virulencia para las dos áreas geográficas con riesgo opuesto

En la distribución de los genes de colonización, *hspA* y *ureA*, hay una prevalencia mayor en la zona BR (51,43% y 54,29%, respectivamente). La frecuencia de la infección del *H. pylori*, determinada por la detección de, al menos uno de los

genes de colonización evaluados fue de 68,75% para la zona AR y 60% para la zona BR. En los genes de virulencia se observa que los genes *cagA*+ y *vacA*+ presentaron una prevalencia de 88,10%, respectivamente, en la zona BR. (Tabla 8).

Tabla 8. Distribución de los genes *hspA*, *ureA*, *cagA* y *vacA* para las dos áreas geográficas de Alto Riesgo (AR) y Bajo Riesgo (BR) de cáncer gástrico

GENES DE COLONIZACIÓN	AR=48	(%)	BR=70	(%)	p valor
<i>hspA</i>					
Positivo	32	66,67%	36	51,43%	0,100
Negativo	16	33,33%	34	48,57%	
<i>ureA</i>					
Positivo	28	58,33%	38	54,29%	0,664
Negativo	20	41,67%	32	45,71%	
<i>H. pylori</i> (+)					
Si	33	68,75%	42	60,00%	0,332
No	15	31,25%	28	40,00%	
GENES DE VIRULENCIA	AR (n=33)	(%)	BR (n=42)	(%)	
<i>cagA</i>					
Positivo	31	93,94%	37	88,10%	0,292
Negativo	2	6,06%	5	11,90%	
<i>vacA</i>					
Positivo	29	87,88%	37	88,10%	0,824
Negativo	4	12,12%	5	11,90%	

4.7. Zonas de alto y bajo riesgo para cáncer gástrico por distrito en el periodo 2016 – 2017, Lima Metropolitana.

Para determinar las zonas de alto y bajo riesgo para cáncer gástrico en este estudio, del total de casos se separó mediante el uso de cuartiles, los cuales dividen una muestra de datos en cuatro partes iguales. Utilizando cuartiles se puede evaluar rápidamente la dispersión y la tendencia central de un conjunto de

datos. Entonces se separó dos cuartiles donde se presentaban pocos casos y otros 2 cuartiles para los que presentaban más casos.

La zona de alto riesgo para cáncer gástrico, en nuestro estudio, está determinada por el rango porcentual de 4,24% a 11,86% de un total de 118 pacientes, en color naranja; los cuales son los distritos de Comas, El Agustino, Independencia, San Juan de Miraflores, San Martín de Porres, Santiago de Surco, Villa María del Triunfo, San Juan de Lurigancho, Villa El Salvador y El Callao. La zona de bajo riesgo para cáncer gástrico, en nuestro estudio, está determinada por el rango porcentual de 0,00% a 3,39%, en color verde; siendo los demás distritos no mencionados anteriormente (Figura 2).

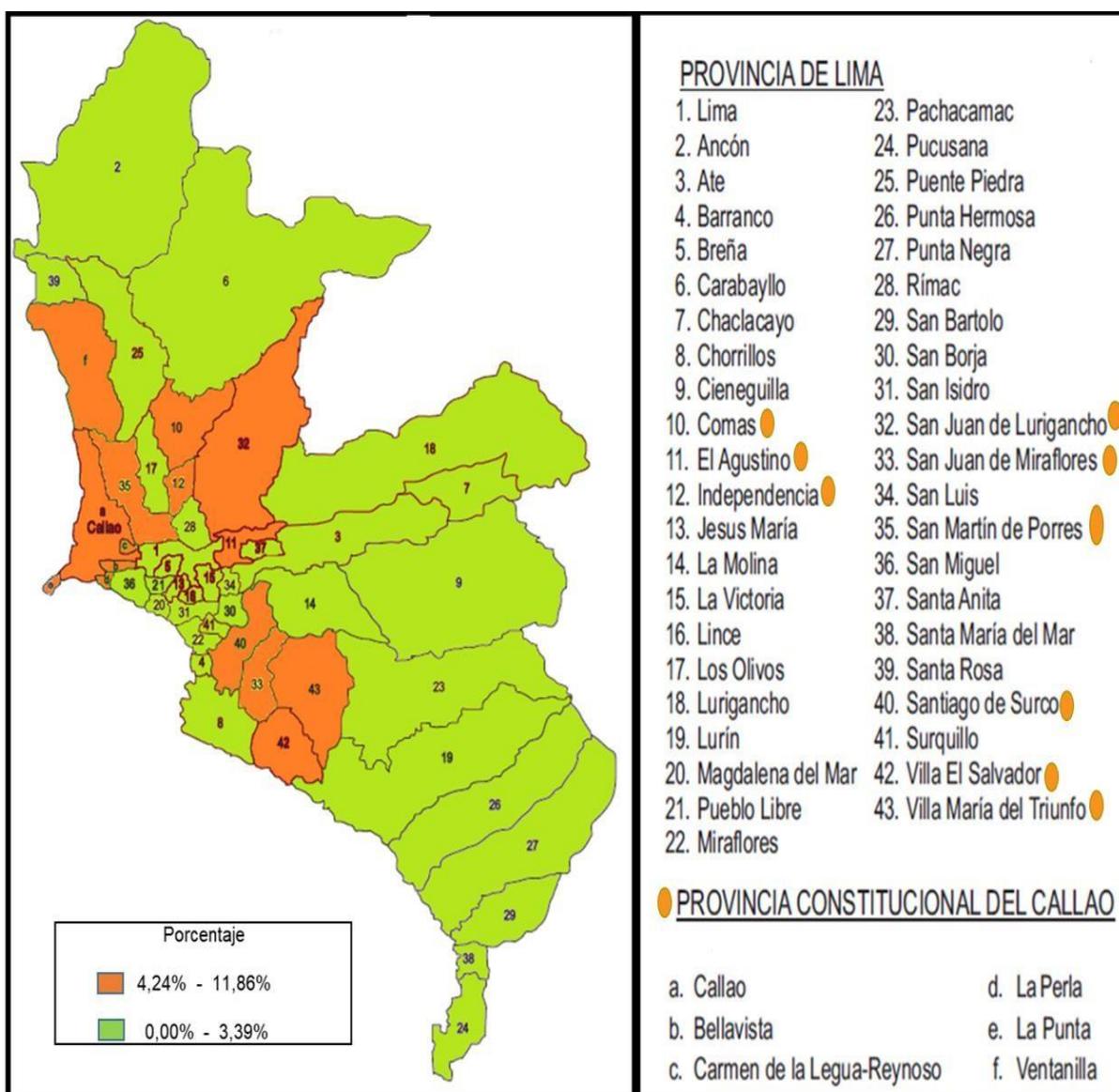


Figura 2. Porcentaje de cáncer gástrico por distrito 2016-2017 en la población de estudio (n=118)

4.8. Zonas de alta y baja prevalencia de la infección por *H. pylori* por distrito en el periodo 2016 - 2017, Lima Metropolitana.

Para determinar las zonas de alto y bajo riesgo para *H. pylori* positivos en este estudio, del total de casos se separó mediante el uso de cuartiles, los cuales dividen una muestra de datos en cuatro partes iguales. Utilizando cuartiles se puede evaluar rápidamente la dispersión y la tendencia central de un conjunto de datos. Entonces se separó dos cuartiles donde se presentaban pocos casos y otros 2 cuartiles para los que presentaban más casos.

La zona de alta prevalencia de infección por *H. pylori*, siendo positivo para sus genes de colonización *hspA* y/o *ureA* por cada distrito, determinada por el rango porcentual de 57,14% al 100,00%, en color amarillo claro; los cuales, son los distritos de Ate, Breña, Comas, Chorrillos, La Victoria, Lurigancho, Miraflores, Pachacamac, Rímac, Independencia, San Martín de Porres, San Miguel, Santiago de Surco, Villa María del Triunfo, San Juan de Lurigancho, Villa El Salvador, Santa Anita y El Callao. Por otro lado, hay una zona de baja prevalencia de infección por *H. pylori*, determinada por el rango porcentual de 0,00% a 50,00%, en color rosado; siendo los demás distritos no mencionados anteriormente (Figura 3).

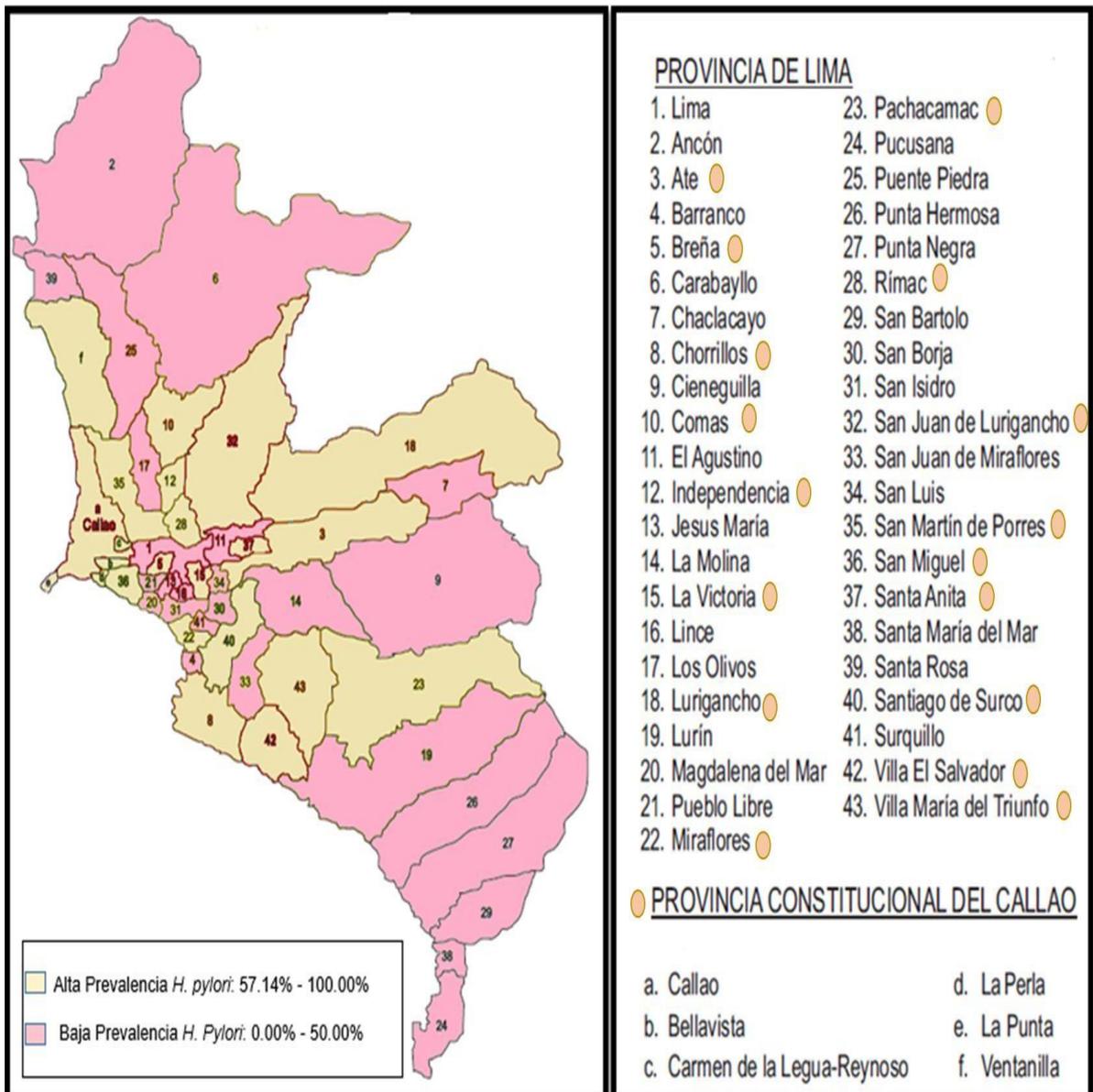
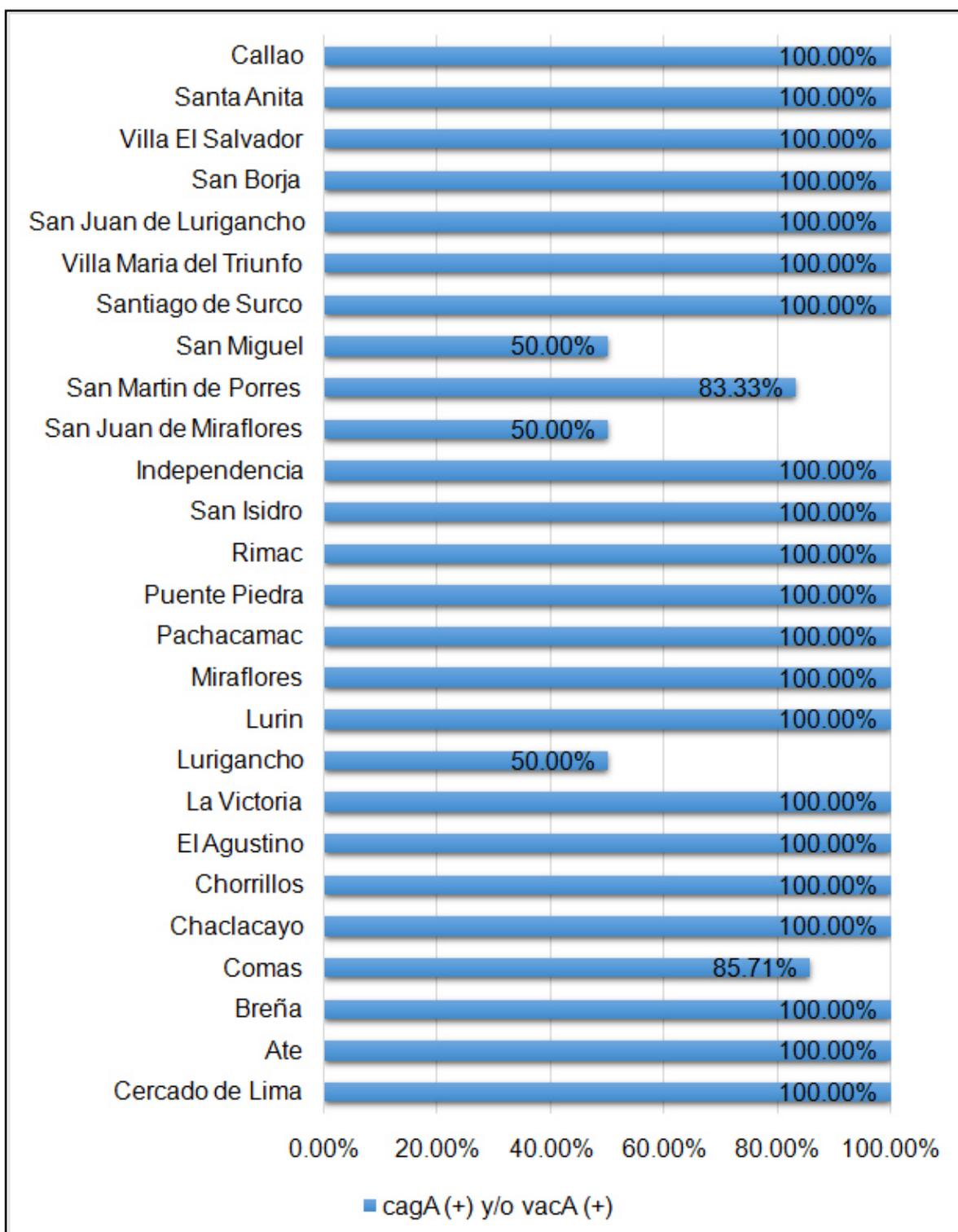


Figura 3. Porcentaje de prevalencia de infección por *H. pylori* por distrito 2016-2017

4.9. Distribución de los genes de virulencia del *H. pylori* positivo, *cagA* positivo y/o *vacA* positivo.

De los 75 pacientes de cáncer gástrico con *H. pylori* 70 infectados presentaron los genes de virulencia *cagA*+ y/o *vacA*+ (93,33%). En todos los distritos se presentaron los genes de virulencia al 100% con excepción de 5 distritos. 1 de 2 en San Miguel (50%), 5 de 6 en San Martín de Porres (83,33%), 1 de 2 en San Juan de Miraflores (50%), 1 de 2 en Lurigancho (50%) y 6 de 7 en Comas (85,71%). (Gráfica 1).

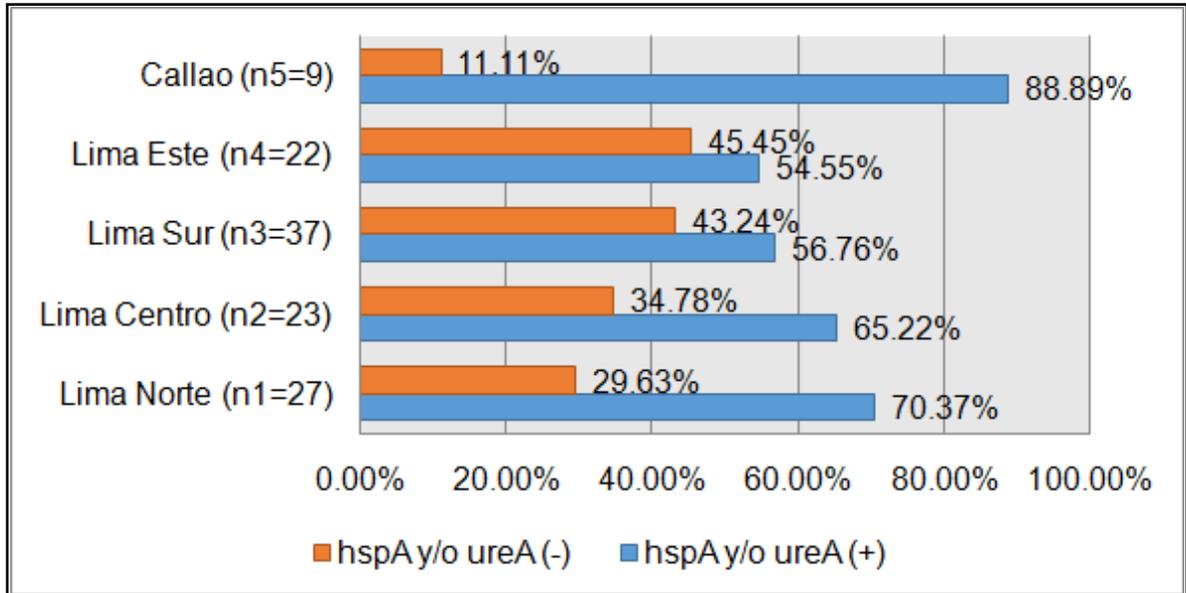


Gráfica 1. Distribución de los genes de virulencia *cagA* (+) y/o *vacA* (+) por distritos en Lima Metropolitana.

4.10. Distribución de los genes de colonización *hspA* y/o *ureA* por sectores de Lima Metropolitana.

De los 118 pacientes con cáncer gástrico 75 fueron *H. pylori* positivo (63,56%), presentando los genes de colonización *hspA* y/o *ureA*. Respecto a los sectores de

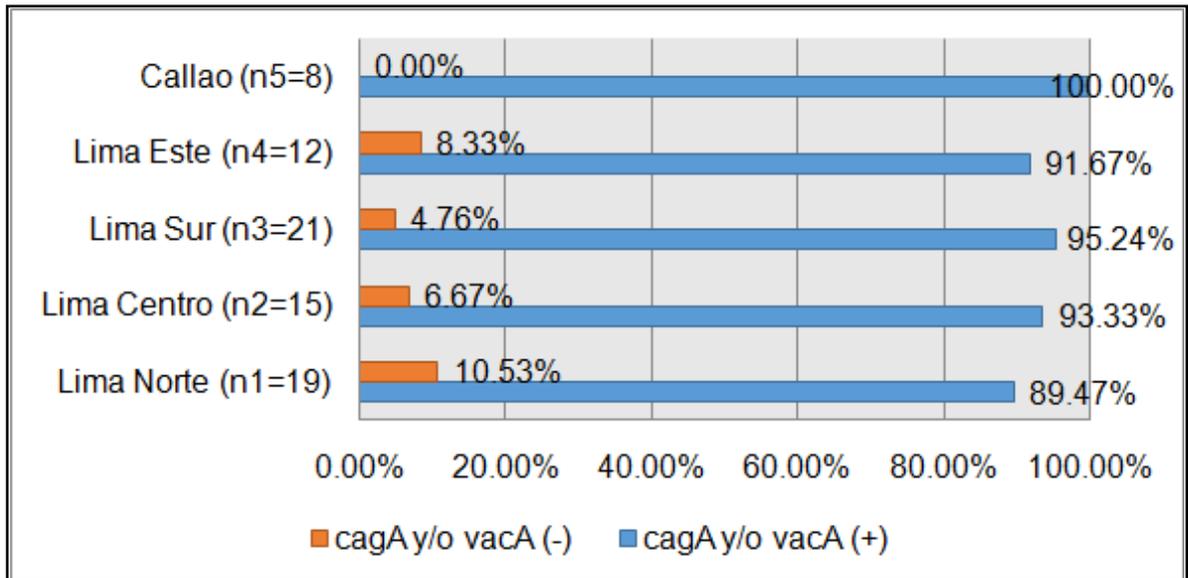
Lima Metropolitana, 19 fue el número de pacientes que presentaron los genes de colonización de 27 pacientes con cáncer gástrico en Lima Norte (70,37%), 15 de 23 en Lima Centro (65,22%), 21 de 37 en Lima Sur (56,76%), 12 de 22 en Lima Este (54,55%) y 8 de 9 en el Callao (88,89%). (Gráfica 2).



Gráfica 2. Distribución de los genes de colonización *hspA* y/o *ureA* por sectores en pacientes con cáncer gástrico de Lima Metropolitana.

4.11. Distribución de los genes de virulencia *cagA* y/o *vacA* por sectores de Lima Metropolitana.

De los 75 pacientes infectados con *H. pylori* 70 infectados presentaron los genes de virulencia *cagA*+ y/o *vacA*+ (93,33%). Respecto a los sectores de Lima Metropolitana, 17 fue el número de pacientes que presentaron los genes de virulencia de 19 pacientes infectados con *H. pylori* en Lima Norte (89,47%), 14 de 15 en Lima Centro (93,33%), 20 de 21 en Lima Sur (95,24%), 11 de 12 en Lima Este (91,67%) y 8 de 8 en el Callao (100,00%). (Gráfica 3).



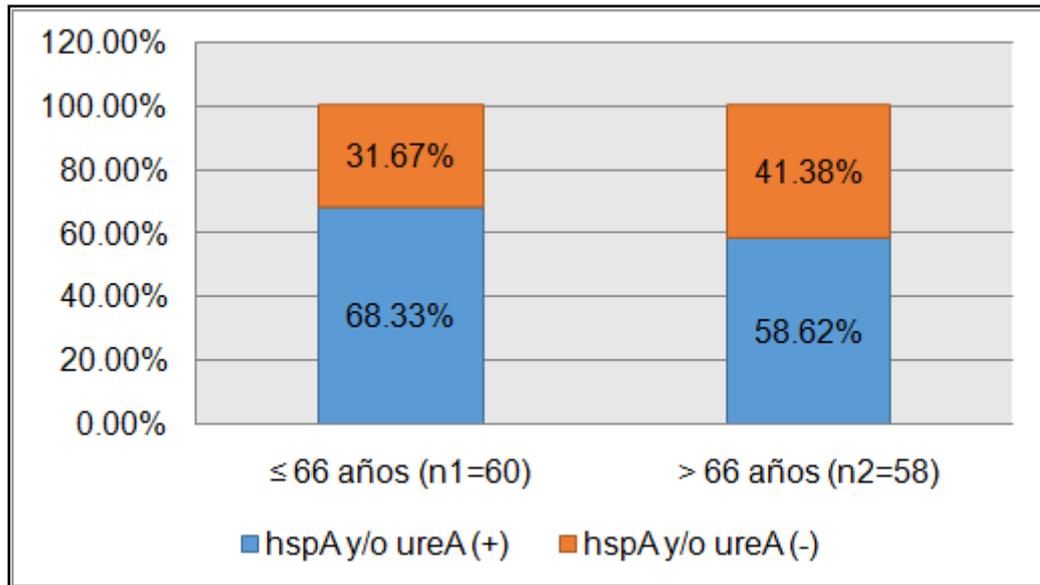
Gráfica 3. Distribución de los genes de virulencia *cagA* y/o *vacA* por sectores en pacientes infectados por *H. pylori* de Lima Metropolitana.

4.12. Distribución de los genes de colonización *hspA* y/o *ureA* en dos grupos según la mediana de edad en los pacientes con cáncer gástrico en Lima Metropolitana.

De los 118 pacientes con cáncer gástrico 75 fueron *H. pylori* positivo (63,56%), presentando los genes de colonización *hspA* y/o *ureA*. El rango de los pacientes en este estudio fue de 29 a 94 años de edad, cuya mediana fue de 66 años.

Se formaron dos grupos de acuerdo a la mediana obtenida, siendo el primer grupo de pacientes con menor o igual a 66 años, conformado por 60 pacientes, y el segundo grupo por pacientes mayores a 66 años de edad, conformado por 58 pacientes.

El primer grupo de pacientes, 41 presentaron los genes de colonización *hspA* y/o *ureA* de un total de 60 pacientes (68,33%), mientras tanto el segundo grupo, presentaron 34 de 58 pacientes (58,62%). (Gráfica 4).



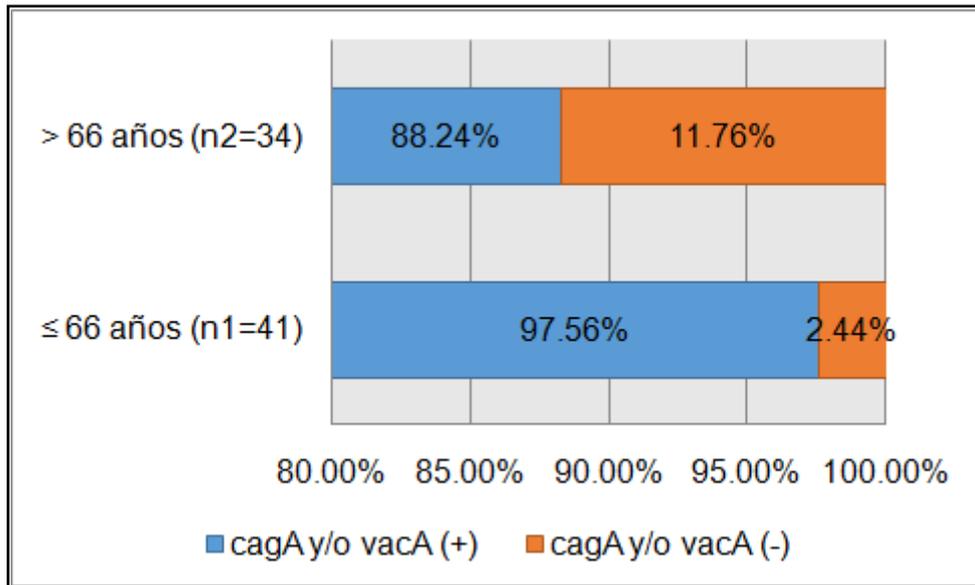
Gráfica 4. Distribución de los genes de colonización *hspA* y/o *ureA* por grupos etarios según la mediana de edad

4.13. Distribución de los genes de virulencia *cagA* y/o *vacA* en dos grupos según la mediana de edad en los pacientes infectados con *H. pylori* en Lima Metropolitana.

De los 75 pacientes infectados con *H. pylori* 70 infectados presentaron los genes de virulencia *cagA*+ y/o *vacA*+ (93, 33%). El rango de los pacientes en este estudio fue de 29 a 94 años de edad, cuya mediana fue de 66 años.

Se formaron dos grupos de acuerdo a la mediana obtenida, siendo el primer grupo de pacientes con menor o igual a 66 años, conformado por 41 pacientes, y el segundo grupo por pacientes mayores a 66 años de edad, conformado por 34 pacientes.

El primer grupo de pacientes, 40 presentaron los genes de virulencia *cagA* y/o *vacA* de un total de 41 pacientes (97,56%), y del segundo grupo, 30 de 34 pacientes (88,24%). (Gráfica 5).



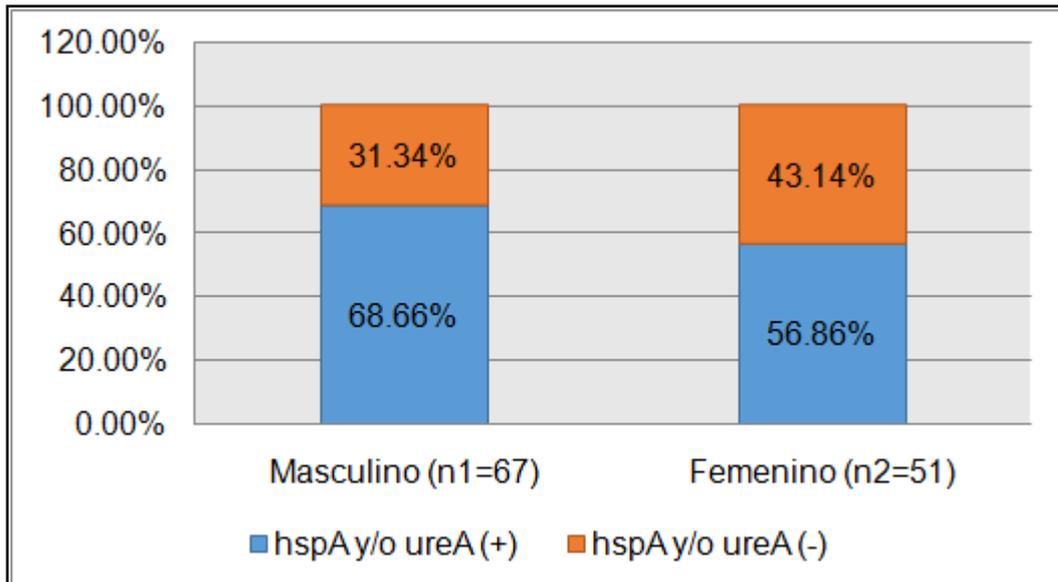
Gráfica 5. Distribución de los genes de virulencia *cagA* y/o *vacA* por grupos etarios según la mediana de edad

4.14. Distribución de los genes de colonización *hspA* y/o *ureA* en dos grupos según el sexo en los pacientes con cáncer gástrico en Lima Metropolitana.

De los 118 pacientes con cáncer gástrico 75 fueron *H. pylori* positivo (63,56%), presentando los genes de colonización *hspA* y/o *ureA*.

Se formaron dos grupos de acuerdo al sexo, siendo el primer grupo de pacientes del sexo masculino, conformado por 67 pacientes, y el segundo grupo por pacientes del sexo femenino, conformado por 51 pacientes.

El primer grupo de pacientes, 46 presentaron los genes de colonización *hspA* y/o *ureA* de un total de 67 pacientes (68,66%), y del segundo grupo, 29 de 51 pacientes (56,86%). (Gráfica 6).



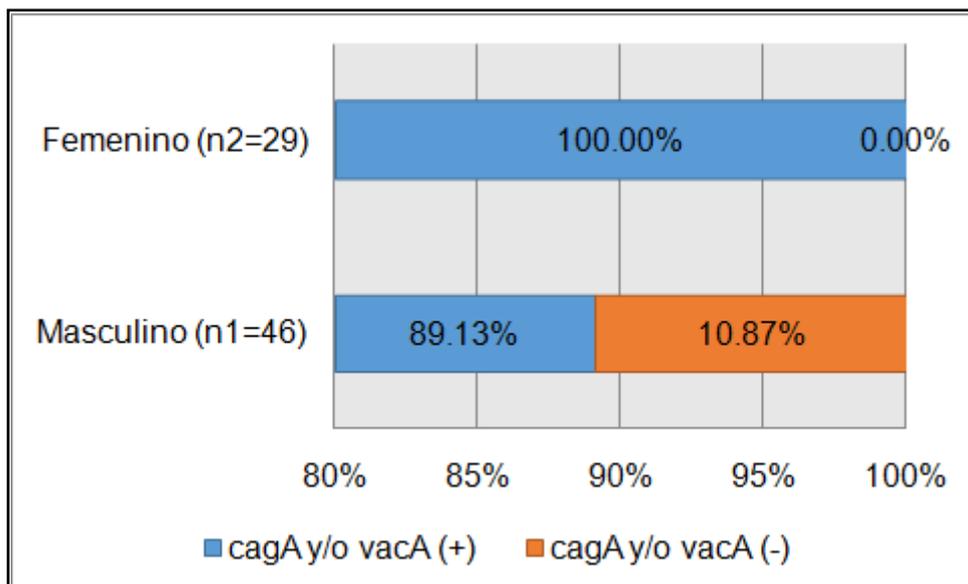
Gráfica 6. Distribución de los genes de colonización *hspA* y/o *ureA* según el sexo en pacientes con cáncer gástrico de Lima Metropolitana.

4.15. Distribución de los genes de virulencia *cagA* y/o *vacA* en dos grupos según el sexo en los pacientes con cáncer gástrico en Lima Metropolitana.

De los 75 pacientes infectados con *H. pylori* 70 infectados presentaron los genes de virulencia *cagA*+ y/o *vacA*+ (93,33%).

Se formaron dos grupos de acuerdo al sexo, siendo el primer grupo de pacientes del sexo masculino, conformado por 46 pacientes, y el segundo grupo por pacientes del sexo femenino, conformado por 29 pacientes.

El primer grupo de pacientes, 41 presentaron los genes de virulencia *cagA* y/o *vacA* de un total de 46 pacientes (89,13%), mientras tanto del segundo grupo, presentaron el 100,00%. (Gráfica 7).



Gráfica 7. Distribución de los genes de virulencia *cagA* y/o *vacA* según el sexo en pacientes infectados por *H. pylori* de Lima Metropolitana.

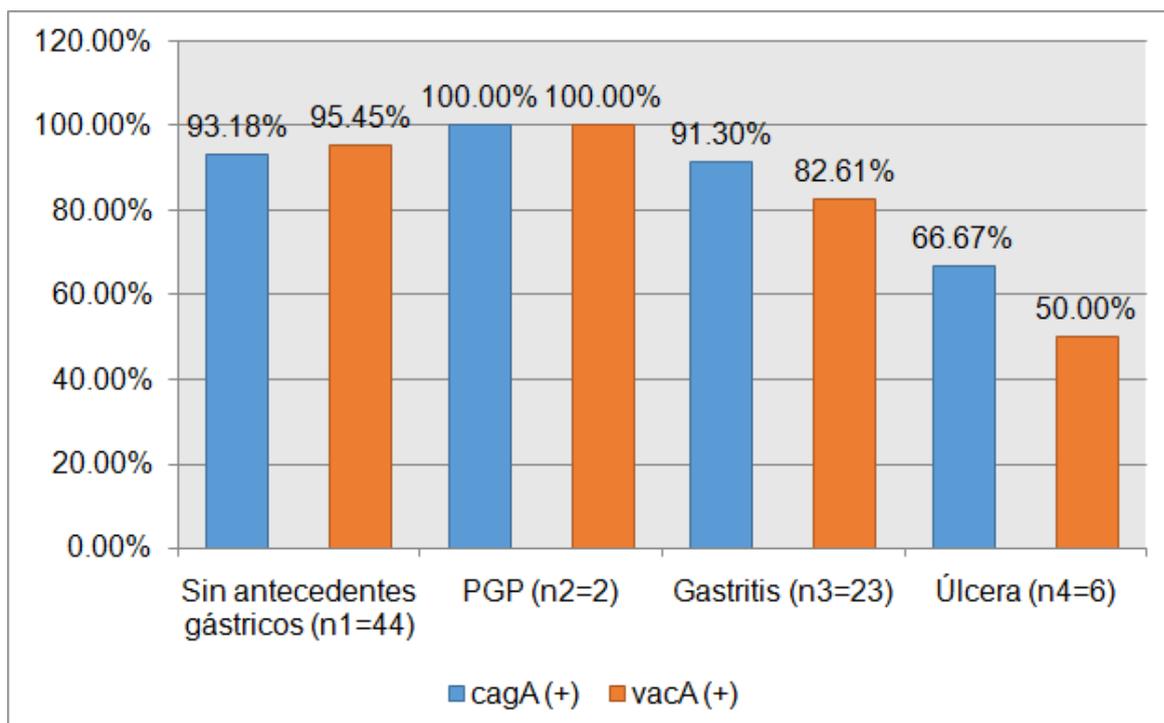
4.16. Distribución de los genes de virulencia *cagA* y *vacA* según los antecedentes personales en los pacientes infectados con *H. pylori* en Lima Metropolitana.

De los 75 pacientes infectados con *H. pylori*, 68 infectados son *cagA*+ (90,67%) y 66 son *vacA*+ (88,00%).

Se formaron cuatro categorías respecto a los antecedentes personales: Sin antecedentes gástricos, problemas gástricos permanentes (PGP), gastritis y úlcera.

Para el gen *cagA* se encontraron 41 de 44 sin antecedentes gástricos (93,18%), 2 de 2 con PGP (100%), 21 de 23 con gastritis (91,30%), y 4 de 6 con úlceras (66,67%). (Gráfica 8).

Para el gen *vacA* se encontraron 42 de 44 sin antecedentes gástricos (95,45%), 2 de 2 con PGP (100%), 19 de 23 con gastritis (82,61%), y 3 de 6 con úlceras (50,00%). (Gráfica 8).



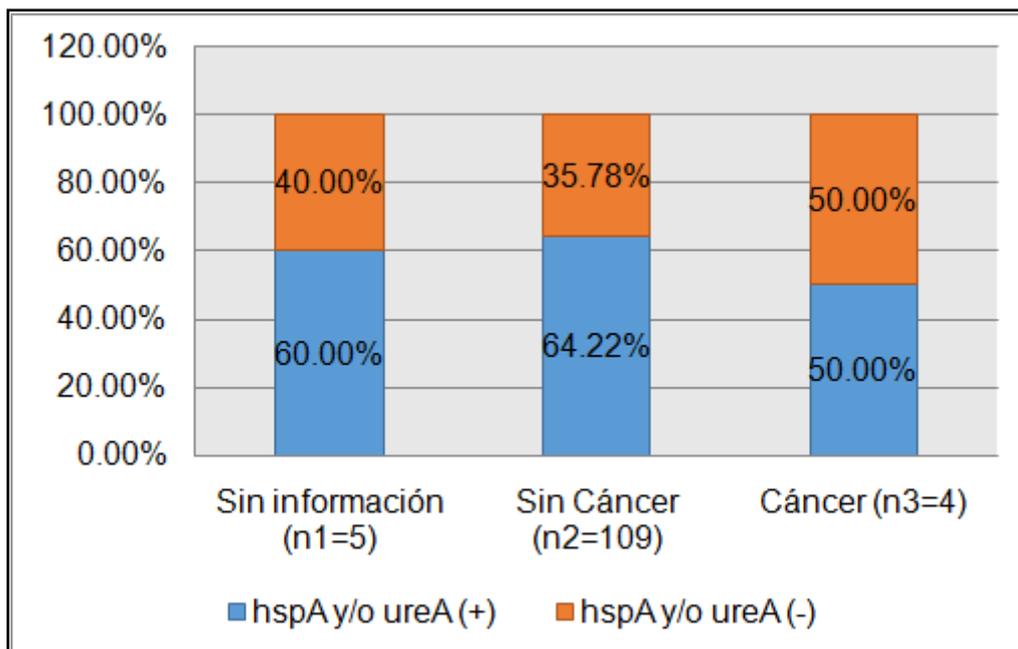
Gráfica 8. Distribución de los genes de virulencia *cagA* y *vacA* según los antecedentes personales en pacientes infectados por *H. pylori* de Lima Metropolitana.

4.17. Distribución de los genes de colonización *hspA* y/o *ureA* según los antecedentes familiares en los pacientes con cáncer gástrico de Lima Metropolitana.

De los 118 pacientes con cáncer gástrico 75 fueron *H. pylori* positivo (63,56%), presentando los genes de colonización *hspA* y/o *ureA*.

Se formaron tres grupos de acuerdo a los antecedentes familiares con cáncer gástrico, siendo el primer grupo de familiares sin información, conformado por 5 familiares, el segundo grupo por familiares sin antecedentes de cáncer gástricos, conformado por 109 familiares y el tercer grupo por familiares con cáncer gástrico, conformado por 4 familiares.

El primer grupo de familiares, 3 presentaron los genes de colonización *hspA* y/o *ureA* de 5 familiares (60,00%), del segundo grupo, 70 de 109 familiares (64,22%) y el tercer grupo, 2 de 4 familiares (50,00%). (Gráfica 9).



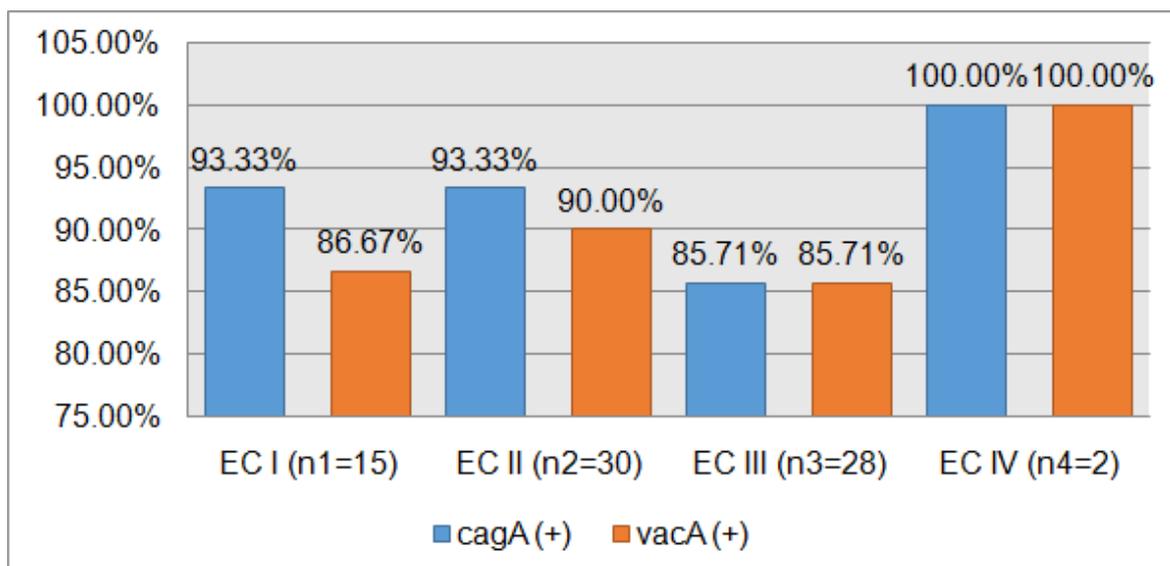
Gráfica 9. Distribución de los genes de colonización *hspA* y/o *ureA* según los antecedentes familiares en pacientes con cáncer gástrico de Lima Metropolitana.

4.18. Distribución de los genes de virulencia *cagA* y *vacA* según los estadios clínicos en los pacientes infectados con *H. pylori* en Lima Metropolitana.

De los 75 pacientes infectados con *H. pylori*, 68 infectados son *cagA*+ (90,67%) y 66 son *vacA*+ (88,00%).

Se formaron cuatro categorías respecto al estadio clínico: Estadío Clínico I (EC I), Estadío Clínico II (EC II), Estadío Clínico III (EC III) y el Estadío Clínico IV (EC IV). Para el gen *cagA* se encontraron 14 de 15 con EC I (93,33%), 28 de 30 con EC II (93,33%), 24 de 28 con EC III (85,71%), y 2 de 2 con EC IV (100,00%). (Gráfica 10).

Para el gen *vacA* se encontraron 13 de 15 con EC I (86,67%), 27 de 30 con EC II (90,00%), 24 de 28 con EC III (85,71%), y 2 de 2 con EC IV (100,00%). (Gráfica 10).



Gráfica 10. Distribución de los genes de virulencia *cagA* y *vacA* según el estadio clínico en pacientes infectados por *H. pylori* de Lima Metropolitana.

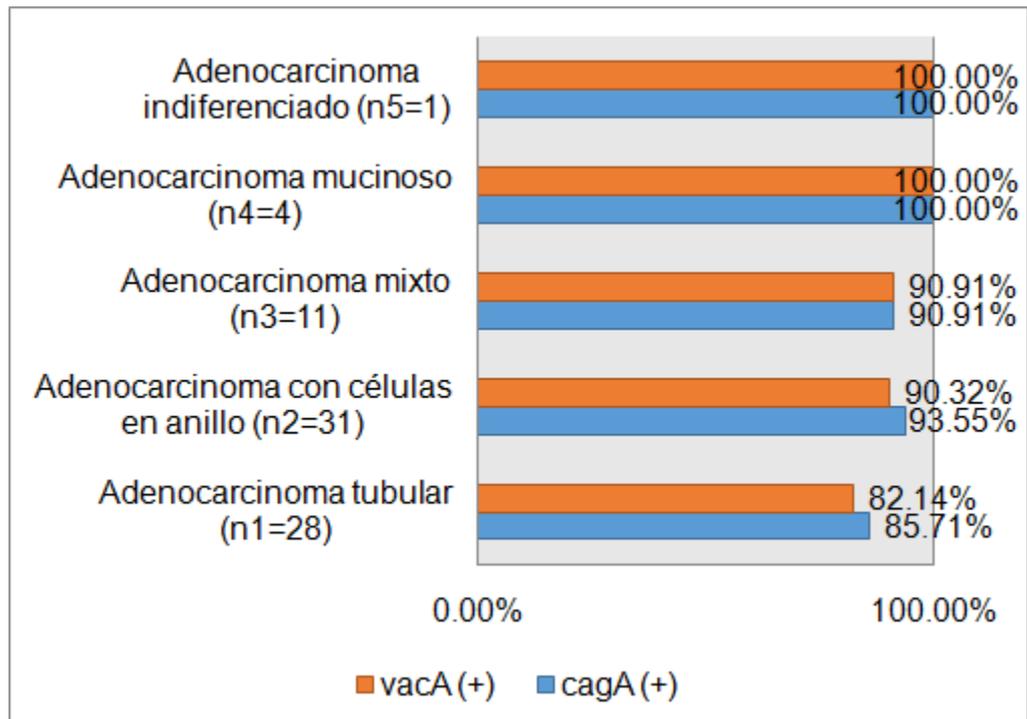
4.19. Distribución de los genes de virulencia *cagA* y *vacA* según el subtipo histológico, clasificación dada por la OMS, en los pacientes infectados con *H. pylori* en Lima Metropolitana.

De los 75 pacientes infectados con *H. pylori*, 68 infectados son *cagA*+ (90,67%) y 66 son *vacA*+ (88,00%).

Se formaron cinco categorías respecto al subtipo histológico, clasificación dada por la OMS: Adenocarcinoma tubular, Adenocarcinoma con células en anillo, Adenocarcinoma mixto, Adenocarcinoma mucinoso y el Adenocarcinoma indiferenciado.

Para el gen *cagA* se encontraron 24 de 28 con Adenocarcinoma tubular (85,71%), 29 de 31 con Adenocarcinoma con células en anillo (93,55%), 10 de 11 con Adenocarcinoma mixto (90,91%), 4 de 4 con Adenocarcinoma mucinoso (100,00%) y 1 de 1 con el Adenocarcinoma indiferenciado (100%). (Gráfica 11).

Para el gen *vacA* se encontraron 23 de 28 con Adenocarcinoma tubular (82,14%), 28 de 31 con Adenocarcinoma con células en anillo (90,32%), 10 de 11 con Adenocarcinoma mixto (90,91%), 4 de 4 con Adenocarcinoma mucinoso (100,00%) y 1 de 1 con el Adenocarcinoma indiferenciado (100%). (Gráfica 11).



Gráfica 11. Distribución de los genes de virulencia *cagA* y *vacA* según el subtipo histológico, clasificación dada por la OMS, en pacientes infectados por *H. pylori* de Lima Metropolitana.

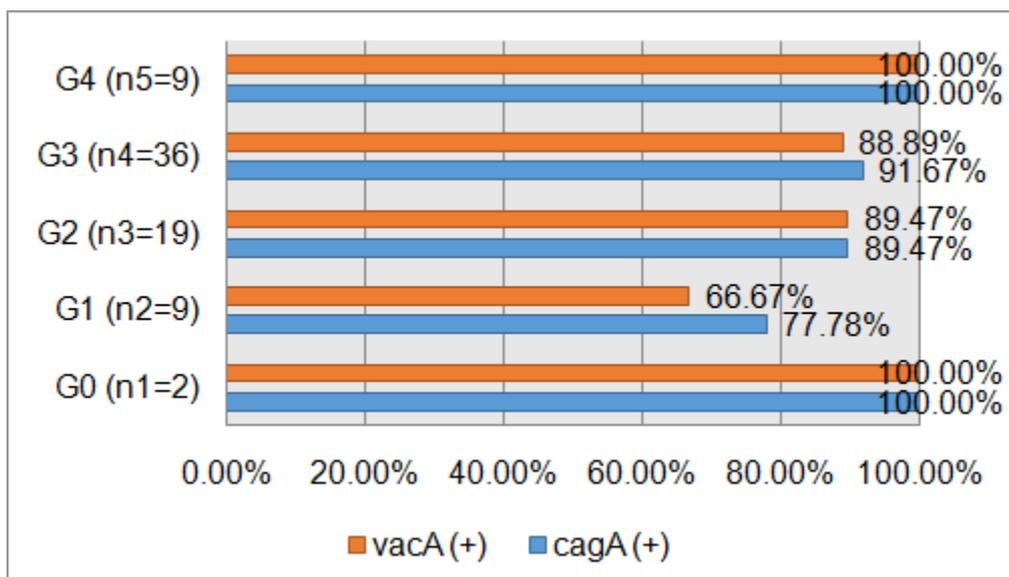
4.20. Distribución de los genes de virulencia *cagA* y *vacA* según el grado histológico, en los pacientes infectados con *H. pylori* en Lima Metropolitana.

De los 75 pacientes infectados con *H. pylori*, 68 infectados son *cagA*+ (90,67%) y 66 son *vacA*+ (88,00%).

Se formaron cinco categorías respecto al grado histológico: G0, no aplica; G1, bien diferenciado; G2, moderadamente diferenciado; G3, pobremente diferenciado; G4, indiferenciado.

Para el gen *cagA* se encontraron 2 de 2 con G0 (100,00%), 7 de 9 con G1 (77,78%), 17 de 19 con G2 (89,47%), 33 de 36 con G3 (91,67%) y 9 de 9 con G4 (100,00%). (Gráfica 12).

Para el gen *vacA* se encontraron 2 de 2 con G0 (100,00%), 6 de 9 con G1 (66,67%), 17 de 19 con G2 (89,47%), 32 de 36 con G3 (88,89%) y 9 de 9 con G4 (100,00%). (Gráfica 12).



Gráfica 12. Distribución de los genes de virulencia *cagA* y *vacA* según el grado histológico en pacientes infectados por *H. pylori* de Lima Metropolitana.

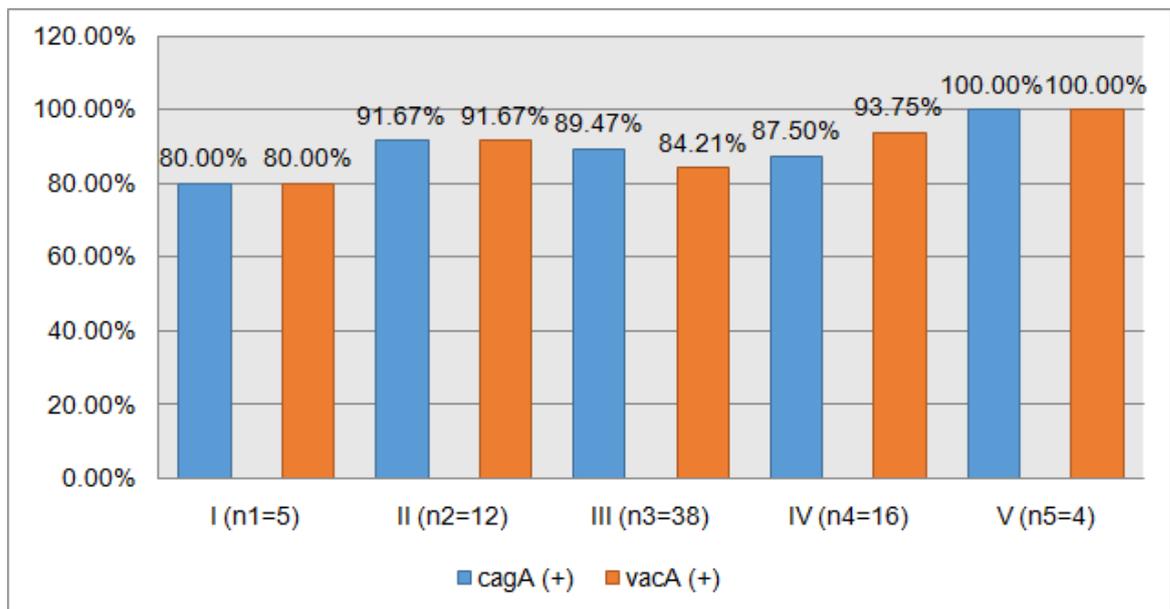
4.21. Distribución de los genes de virulencia *cagA* y *vacA* según el Bormann, en los pacientes infectados con *H. pylori* en Lima Metropolitana.

De los 75 pacientes infectados con *H. pylori*, 68 infectados son *cagA*+ (90,67%) y 66 son *vacA*+ (88,00%).

Se formaron cinco categorías respecto al Bormann: I, II, III, IV y V.

Para el gen *cagA* se encontraron 4 de 5 con Bormann (80,00%), 11 de 12 con Bormann II (91,67%), 34 de 38 con Bormann III (89,47%), 14 de 16 con Bormann IV (87,50%) y 4 de 4 con Bormann V (100,00%). (Gráfica 13).

Para el gen *vacA* se encontraron 4 de 5 con Bormann (80,00%), 11 de 12 con Bormann II (91,67%), 32 de 38 con Bormann III (84,21%), 15 de 16 con Bormann IV (87,50%) y 4 de 4 con Bormann V (100,00%). (Gráfica 13).



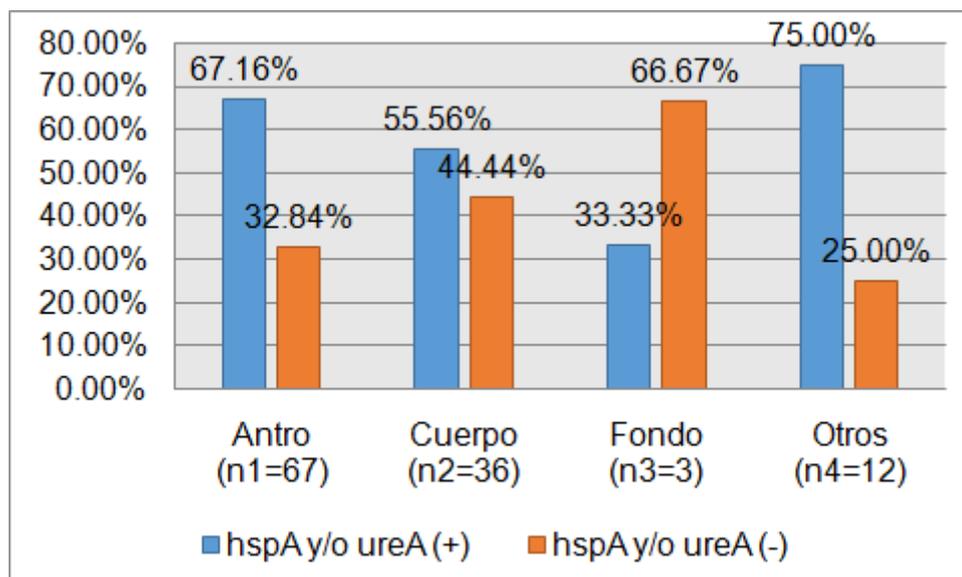
Gráfica 13. Distribución de los genes de virulencia *cagA* y *vacA* según el Bormann en pacientes infectados por *H. pylori* de Lima Metropolitana.

4.22. Distribución de los genes de colonización *hspA* y/o *ureA* según la localización tumoral, en los pacientes con cáncer gástrico en Lima Metropolitana.

De los 118 pacientes con cáncer gástrico 75 fueron *H. pylori* positivo (63,56%), presentando los genes de colonización *hspA* y/o *ureA*.

Se formaron cuatro grupos de acuerdo a la localización tumoral, siendo el primer grupo el antro, conformado por 67 pacientes, el segundo grupo el cuerpo, conformado por 36 pacientes, el tercer grupo el fondo, conformado por 3 pacientes y el cuarto grupo otros, conformado por 12 pacientes.

El primer grupo de pacientes, 45 presentaron los genes de colonización *hspA* y/o *ureA* de 67 pacientes (67,16%), del segundo grupo, 20 de 36 (55,56%), el tercer grupo, 1 de 3 (33,33%) y el cuarto grupo, 9 de 12 (75%). (Gráfica 14).



Gráfica 14. Distribución de los genes de colonización *hspA* y/o *ureA* según la localización tumoral en pacientes con cáncer gástrico de Lima Metropolitana.

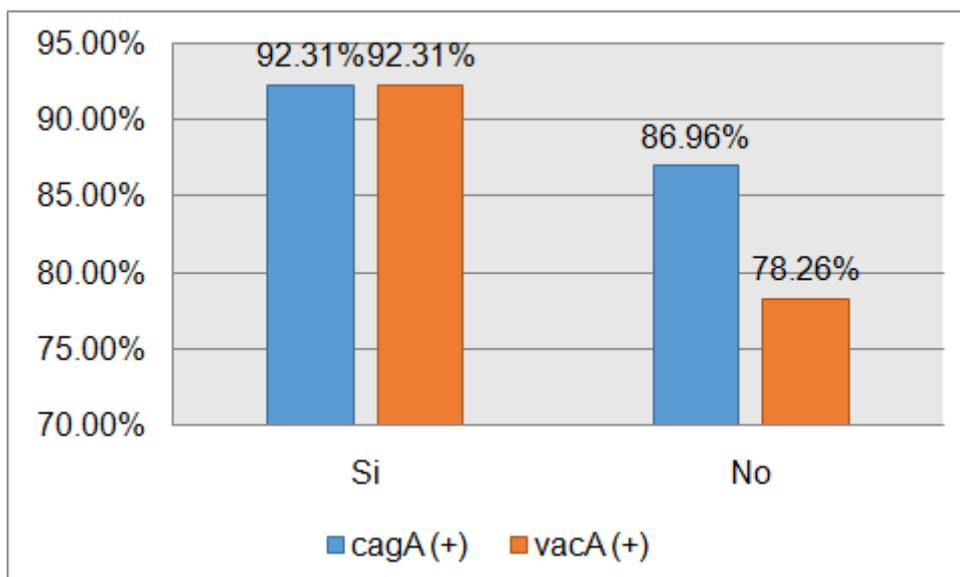
4.23. Distribución de los genes de virulencia *cagA* y *vacA* según el compromiso ganglionar, en los pacientes infectados con *H. pylori* en Lima Metropolitana.

De los 75 pacientes infectados con *H. pylori*, 68 infectados son *cagA*+ (90,67%) y 66 son *vacA*+ (88,00%).

Se formaron dos categorías respecto al compromiso ganglionar: Sí y No.

Para el gen *cagA* se encontraron 48 de 52 con compromiso ganglionar (92,31%) y 20 de 23 sin compromiso ganglionar (86,96%). (Gráfica 15).

Para el gen *vacA* se encontraron 48 de 52 con compromiso ganglionar (92,31%) y 18 de 23 sin compromiso ganglionar (78,26%). (Gráfica 15).



Gráfica 15. Distribución de los genes de virulencia *cagA* y *vacA* según el compromiso ganglionar en pacientes infectados por *H. pylori* de Lima Metropolitana.

V. DISCUSIÓN

En el presente estudio se evaluó la prevalencia y distribución de los genes de colonización y virulencia del *H. pylori* en 118 pacientes con diagnóstico de cáncer gástrico, se obtuvo 75 casos positivos para *H. pylori*, teniendo los genes de colonización *hspA* y/o *ureA* positivos, mediante PCR en tiempo real. Este resultado de casos positivos representa el 63,56% del total de pacientes evaluados. Así mismo, de los casos positivos para *H. pylori* se detectaron los genes de virulencia, el gen *cagA* representó el 90,67% (68/75) y el gen *vacA* el 88,00% (66/75) de los casos positivos.

Respecto a los genes de colonización, con los resultados de este estudio corroboran la prevalencia del *H. pylori* en Lima Metropolitana porque en un estudio, hecho también en Perú, evaluaron los genes de colonización *hspA* y *ureA*, mediante PCR en tiempo real, demostrando así la colonización de dicha bacteria con un 84,7% de un total de 144 pacientes con diagnóstico de adenocarcinoma gástrico a nivel nacional, lo que es diferente con este estudio que fue solo al nivel de Lima Metropolitana¹⁶. En otro estudio similar, se analizaron muestras de agua de consumo humano de los domicilios, mediante el PCR en tiempo real, de los pacientes diagnosticados con cáncer gástrico que fueron atendidos en el INEN encontrándose la prevalencia del gen de factor de colonización *ureA* en un 9,52% (8/84) de las muestras de agua y que son *H. pylori* positivos. También en aquel estudio se encontró una prevalencia del gen de factor de colonización *hspA* en un 7,14% (6/84) de las muestras de agua y que son *H. pylori* positivos, con estos resultados indican que la presencia del *H. pylori* no solo coexisten dentro de los pacientes sino también en el agua de consumo humano de ellos, y la relación con los encontrado en el presente estudio suman evidencia de la prevalencia de los genes de colonización de dicha bacteria en Lima Metropolitana¹⁵. Adicionalmente, en un estudio hecho en Arabia Saudita, usaron del gen *ureA* y el gen 16S rRNA, los cuales establecen la detección del *H. pylori* mediante PCR. Siendo evaluados 35 pacientes diagnosticados con cáncer gástrico de los cuales se encontró una prevalencia de 57,20% (20/35), lo cual es semejante al presente estudio¹³. En China, el 96,6% (281/290) de los pacientes en aquel estudio se demostró una alta prevalencia del *H. pylori* positivos, evaluada por PCR, el cual es similar con el

presente estudio por la alta prevalencia de la bacteria en mención¹². Así mismo, podemos observar que mayormente el *H. pylori* infecta a más de la mitad de la población en evaluación, lo que concuerda con otros estudios a nivel mundial, en países latinoamericanos y África^{60,61}.

Respecto a los genes de virulencia, los resultados obtenidos en nuestro estudio son semejantes con un estudio hecho en México, ya que ellos mencionan que la prevalencia de infección por *H. pylori* es de 60% en cáncer gástrico (12/20) siendo el genotipo *vacAs1m1/cagA+* el más frecuente, el 58,3% (7/12)¹². En otro estudio en el sur del mismo país, se encontró una prevalencia del 61,5 % (24/39) siendo el genotipo *vacAs1m1* 83,3% (20/24) y el *cagA* 58,3% (14/24) en pacientes con diagnóstico de cáncer gástrico⁶²; en ambos estudios la genotipificación se realizó mediante la PCR. Por otro lado, en nuestro continente sudamericano, en un estudio colombiano, mediante PCR, se realizó la genotipificación de los genes virulentos encontrándose el 68,57% (24/35) para el gen *cagA* y el 82,85% (29/35) para el genotipo *vacAs1m1* en los pacientes diagnosticados con cáncer gástrico⁶³. Estos dos últimos estudios, sur de México y Colombia, difieren con el presente estudio ya que el gen *cagA* tuvo más frecuencia que el gen *vacA*; lo que demuestra que la distribución de los genes de virulencia es distinta según la ubicación geográfica⁶⁴.

Por otro lado, en estos siete últimos años se han hecho estudios determinando áreas opuestas de riesgo para cáncer gástrico y a su vez se han evaluado la distribución de los genes de virulencia del *H. pylori*^{9,10,11}. En el presente estudio se añadió un procedimiento similar, explicado en metodología del trabajo. En un estudio hecho en Colombia, respecto a la mediana de edad en la zona de alto riesgo (AR) fue 53 años, que es mayor que en la zona de bajo riesgo (BR), la cual fue 46 años. Respecto al sexo, el masculino con un 54,7% (104/190) fue el que presentó mayor frecuencia en la zona AR y el femenino con un 60,8% (65/107) en la zona BR. Respecto a la gastritis como parte de su diagnóstico histológico, se encontraron resultados significativos ($p \leq 0,001$), el 58,9% (112/190) en la zona AR y el 88,8% (95/107) en la zona BR. Finalmente respecto a los genes de virulencia, ellos encontraron 68% (131/190) del gen *cagA* en la zona de AR y el 78,4%

(83/107) en la zona de BR. Para el gen *vacAs1m1* el 56,67% (102/190) en la zona AR y el 65,9% (60/107) en la zona BR. En contraste con el presente estudio, respecto a la mediana de edad en la zona de bajo riesgo (BR) fue 69 años, que es mayor que en la zona de alto riesgo (AR), la cual fue 63,5 años; sin embargo, no fue significativo ($p=0,565$). Respecto al sexo, el femenino con un 54,17% (26/48) fue el que presentó mayor frecuencia en la zona AR y el masculino con un 64,29% (45/70) en la zona BR; siendo significativo ($p\leq 0,05$). Respecto a la gastritis como antecedente personal, se encontraron resultados significativos ($p\leq 0,05$), el 33,33% (16/48) en la zona AR y el 27,14% (19/70) en la zona BR. Finalmente respecto a los genes de virulencia, se encontró el 93,94% (31/33) del gen *cagA* en la zona de AR y el 88,10% (37/42) en la zona de BR. Para el gen *vacA* el 87,88% (29/33) en la zona AR y el 88,10% (37/42) en la zona BR, los cuales no presentaron significancia. Y al igual que el estudio en Colombia., las diferencias en el riesgo de cáncer gástrico en estas dos zonas no pueden explicarse por las diferencias en la prevalencia de infección por *H. pylori* o en la virulencia de las cepas circulantes⁹.

En el aspecto patológico, hay otro estudio similar también realizado en Colombia, donde encontraron mayor severidad en las alteraciones histopatológicas en pacientes infectados por *H. pylori*, que dentro de sus variables más resaltantes fueron la gastritis y la localización de las lesiones gástricas en el antro y cuerpo, y que en su genotipificación tuvieron *cagA* y *vacAs1m1* positivos en la zona AR para cáncer gástrico ($p\leq 0,05$)¹¹. Sus resultados fueron diferentes al presente estudio ya que se encontró características patológicas con peor pronóstico como el grado histológico, la clasificación Bormann, la localización y el compromiso ganglionar con *cagA+* y *vacA+* con 88,10% (37/42), cada uno respectivamente, de pacientes *H. pylori* positivos de la zona BR, siendo estos resultados sin significancia. Esta diferencia con el presente estudio, no se puede explicar por la prevalencia y distribución de los genes de colonización y virulencia del *H. pylori*.

VI. CONCLUSIONES

- De los distritos de alto riesgo para cáncer gástrico en Lima Metropolitana en este estudio se estimó una mayor prevalencia en los distritos de El Agustino, San Juan de Lurigancho, Villa El Salvador y El Callao.
- De los distritos de alto riesgo para cáncer gástrico en Lima Metropolitana se estimó una mayor prevalencia de *H. pylori*, siendo positivos los genes de colonización *hspA* y/o *ureA*, en los distritos de Ate, Breña, La Victoria, San Juan de Lurigancho, Villa El Salvador, Santa Anita y El Callao.
- De los distritos de alto riesgo para cáncer gástrico en Lima Metropolitana se estimó una mayor distribución de los genes de virulencia *cagA* y/o *vacA* del *H. pylori* en los distritos de Cercado de Lima, Ate, Breña, Chaclacayo, El Agustino, La Victoria, San Juan de Lurigancho, Villa El Salvador, Santa Anita y El Callao.

VII. RECOMENDACIONES

- Se recomienda ampliar el número de muestras para un próximo estudio y así posiblemente tener una mayor significancia a nivel de Lima Metropolitana.
- Se recomienda evaluar las características socioeconómicas para un próximo estudio y así tener una base actualizada para Lima Metropolitana.
- Se recomienda evaluar la distribución de los alelos del gen de virulencia *vacA*, ya que contribuiría con una mejor asociación entre la infección por *H. pylori* y las características clínico patológicas del cáncer en Lima Metropolitana.
- Se recomienda evaluar que alimentos probablemente están contaminados con *H. pylori* como acción preventiva para el ingreso de dicha bacteria a nuestro organismo.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Torres J, Correa P, Ferreccio C, Hernandez-Suarez G, Herrero R, Cavazza-Porro M, et al. Gastric cancer incidence and mortality is associated with altitude in the mountainous regions of Pacific Latin America. *Cancer Causes Control*. 2013;24(2):249-56.
2. Ghoshal UC, Chaturvedi R, Correa P. The enigma of *Helicobacter pylori* infection and gastric cancer. *Indian J Gastroenterol*. 2010;29(3):95-100.
3. León-Barúa R. Factores geográficos socioeconómicos en la orientación de patología gastroduodenal asociada a la infección por *helicobacter pylori*. *Acta Gastroenterol Latinoam*. 2000;30(5):491-6.
4. Registro de Cáncer de Lima Metropolitana. Incidencia y Mortalidad 2010–2012, Volumen 5. Lima 2016
5. Suerbaum S, Michetti P. *Helicobacter pylori* infection. *N Engl J Med*. 2002;347(15):1175-86.
6. Blaser MJ, Perez-Perez GI, Kleanthous H, Cover TL, Peek RM, Chyou P, et al. Infection with *Helicobacter pylori* strains possessing *cagA* is associated with an increased risk of developing adenocarcinoma of the stomach. *Cancer Res*. 1995;55(10):2111-5.
7. Rugge M, Busatto G, Cassaro M, Shiao YH, Russo V, Leandro G, et al. Patients younger than 40 years with gastric carcinoma: *Helicobacter pylori* genotype and associated gastritis phenotype. *Cancer*. 1999;85(12):2506-11.
8. Ramirez-Ramos A, Leon-Barua R, Gilman R, Recavarren SA, Spria W, Watanabe-Yamamoto J, et al. *Helicobacter pylori* and Gastritis in Peruvian Patients: Relationship to Socioeconomic Level, Age, and Sex. *Am J Gastroenterol*. 1990;85(7).
9. Trujillo, Esperanza, Teresa Martínez, and María Mercedes Bravo. "Genotipificación de los factores de virulencia *vacA* y *cagA* de *Helicobacter pylori* en individuos de dos regiones de Colombia con riesgo opuesto de cáncer gástrico." *Biomédica* 2014; 34(4).
10. Wang M-y, Chen C, Gao X-z, Li J, Yue J, Ling F, et al. Distribution of *Helicobacter pylori* virulence markers in patients with gastroduodenal diseases in a region at high risk of gastric cancer. *Microb Pathog*. 2013;59:13-8.

11. Martínez, Teresa, et al. "Características histológicas de la gastritis asociada a los genotipos *cagA* y *vacA* de *Helicobacter pylori* difieren en 2 zonas de riesgo opuesto para cáncer gástrico en Colombia." *Revista Española de Patología* 46.3 (2013): 139-152.
12. Martínez-Carrillo D, Atrisco-Morales J, Hernández-Pando R, Reyes-Navarrete S, Betancourt-Linares R, Cruz-del Carmen I, et al. Diversidad de los genotipos *vacA* y *cagA* de *Helicobacter pylori* y expresión de interferón gamma en pacientes con gastritis crónica y cáncer gástrico. *RevGastroenterolMex*. 2014;79(4):220-8.
13. Pinto-Ribeiro I, Ferreira RM, Batalha S, Hlaing T, Wong SI, Carneiro F, et al. *Helicobacter pylori vacA* genotypes in chronic gastritis and gastric carcinoma patients from Macau, China. *Toxins*. 2016;8(5):142.
14. Bibi F, Alvi SA, Sawan SA, Yasir M, Sawan A, Jiman-Fatani AA, et al. Detection and genotyping of *Helicobacter pylori* among gastric ulcer and cancer patients from Saudi Arabia. *Pakistan journal of medical sciences*. 2017;33(2):320.
15. Monsalve Bernabé, Luis. "Prevalencia de *Helicobacter pylori* en el agua de consumo humano de pacientes diagnosticados con cáncer gástrico *Helicobacter pylori* positivo en el Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas 2015-2016." (2017).
16. Custodio Zegarra, David. "Prevalencia de la infección de la bacteria *Helicobacter pylori* en pacientes diagnosticados con adenocarcinoma gástrico en el Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas (INEN)-Lima, Perú." (2017)
17. Tierney L y cols. Diagnóstico clínico y tratamiento 35ª Edición. Tumores malignos de estómago. Ed. Manual Moderno Pgs. 585-86.
18. Corral VB. Cáncer gástrico. Estado actual. *Cirujano General* 1999; 21 (1).
19. Ang TL, Fock KM. Clinical epidemiology of gastric cancer. *Singapore Med J* 2014; 55: 621-628.
20. Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. GLOBOCAN 2008 v2.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 10 [Online]. Available from: URL: <http://globocan.iarc.fr>
21. Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int J Cancer* 2010; 127: 2893-2917.

22. De Vita VT, Hellman S, Rosenberg SA. Cancer: Principles and practice of Oncology 6a Ed. Cancer of the stomach. Edit. Lippincott Williams and Wilkins. Pgs. 1092-1126.
23. Zinner MJ, Schwartz SI, Ellis H. Operaciones Abdominales 10ª Edición. Tumores gástricos. Ed. Interamericana. Pgs 927-54.
24. Soto AV, Cruz OH, Salas GJ, Murgía D. Cáncer gástrico: caso clínico-patológico. Rev Fac Med UNAM 2001; 44(3): 133-36.
25. Setiawan VW, Zhang ZF, Yu GP, et al. GSTT1 and GSTM1 null genotypes and the risk of gastric cancer: a case-control study in a Chinese population. Cancer epidemiology, Biomarkers and prevention. 2000; 9(1): 73-80.
26. Xia HH, KalantarJS, Talley NJ, et al. Antral-type mucosa in the gastric incisura, body, and fundus (antralization): a link between *Helicobacter pylori* infection and intestinal metaplasia? American Journal of Gastroenterology. 2000; 95(1): 114-21.
27. Alexander GA. Association of *Helicobacter pylori* infection with gastric cancer. Military Medicine 2000; 165(1): 21-27.
28. Schwartz SI, ShiresGT, Fischer JF. Principios de Cirugía 7ª Edición. Oncología; Biología de la transformación maligna. Ed. Mc Graw-Hill Interamericana SA de CV. Pgs 330-51.
29. Villar HV. Tumor biology. Cirujano General 1999; 21(1): 9-14.
30. Lauren P. The two histological main types of gastric carcinoma. Diffuse and so-called Intestinal type carcinoma: An attempt at histoclinical classification. ActaPathoMicrobiolScand. 1965;64:31-49.
31. Hu B, Hajj N, Sittler S, et al. Gastric cancer: Classification, histology and application of molecular pathology. J GastrointestOncol. 2012;3:251-61.
32. OoiCH, Ivanova T, Wu J, et al. Oncogenic pathway combinations predict clinical prognosis in gastric cancer. PLoS Genet.2009;5:1-13.
33. Deng N, Goh L, Wang H, et al. A comprehensive survey of genomic alterations in gastric cancer reveals systematic patterns of molecular exclusivity and co-occurrence among distinct therapeutic targets. Gut. 2012;61:673-84.
34. Wong H, Yau T. Molecular targeted therapies in advanced gastric cancer: Does tumor histology matter? TherAdvGastroenterol. 2013;6:15-31.
35. Espejo-Romero H, Navarrete-Siancas J. Clasificación de los adenocarcinomas de estómago. Rev Gastroenterol (Perú). 2003;23:199---202.

36. Caneiro F, Huntsman D, Smyrk, et al. Model of the early development of diffuse gastric cancer in E-cadherin mutation carriers and its implications for patient screening. *Pathol.* 2004;203:681-7.
37. Watanabe H, Jass JR, Sabin LH. Histological typing of oesophagus and gastric tumors, In World Health Organization International. *Histological Classification of tumors.* Springer – Verlag – Berlin, 1989; 20-26
38. American Joint Committee on Cancer. Stomach. In: *AJCC Cancer Staging Manual.* 8th ed. New York, NY: Springer; 2017:203.
39. Roque Sáenz F, Helicobacter pylori, una historia de 30 años, Santiago –Chile, *Rev. Med. Clin. Condes* - 2015; 26(5) 572-578.
40. Tonkic A, Tonkic M, Lehours P, Megraud F. Epidemiology and diagnosis of Helicobacter pylori infection. *Helicobacter.* 2012; 17 (Suppl 1):1-8.
41. Murray P, Rosenthal K, Pfaller M, *Microbiología médica,* Barcelona- España, Editorial Elsevier 6ta Edición, 2010, 32: 328-332.
42. Hu LT, Mobley H. Purification and N-terminal analysis of urease from Helicobacter pylori. *Infect Immun.* 1990;58(4):992-8.
43. Phadnis, Suhas H., et al. "Surface localization of Helicobacter pylori urease and a heat shock protein homolog requires bacterial autolysis." *Infection and immunity* 64.3 (1996): 905-912.
44. Mobley H. The role of *Helicobacter pylori* urease in the pathogenesis of gastritis and peptic ulceration. *Aliment Pharmacol Ther.* 1996;10(Sup1):57-64.
45. Sánchez-Zauco NA, Giono-Cerezo S, Maldonado-Bernal C. Receptores tipo Toll, patogénesis y respuesta inmune a *Helicobacter pylori*. *Salud Publica Mex.* 2010;52(5):447-54.
46. Leunk R., Johnson P., David B., Kraft W., Morgan D. (1988). Cytotoxic activity in broth-culture filtrates of Campylobacter pylori. *J Med Microbiol;* 26:93-9
47. Cover T., Tummuru M., Cao P., Thompson S., Blaser M. (1994). Divergence of genetic sequences for the vacuolating cytotoxin among Helicobacter pylori strains. *J Biol Chem;* 269:1056-73.
48. Jones KR, Whitmire JM, Merrell DS. A tale of two toxins: Helicobacter pylori CagA and VacA modulate host pathways that impact disease. *Frontiers in microbiology.* 2010;1:115.

49. Ding S-Z, Zheng P-Y. Helicobacter pylori infection induced gastric cancer; advance in gastric stem cell research and the remaining challenges. Gut Pathog. 2012;4(1):18.
50. Polk DB, Peek Jr RM. Helicobacter pylori: gastric cancer and beyond. NatureReviews Cancer. 2010;10(6):403.
51. Somodevilla, A. Factores de virulencia, aspectos inmunológicos y patrones de sensibilidad en aislamientos clínicos de Helicobacter pylori. Tesis doctoral de la Universidad Complutense de Madrid. 2012.
52. Letley D, Rhead J, Twells R, Dove B, Atherton J.(2003) Determinants of Non-toxicity in the Gastric Pathogen Helicobacter pylori. J Biol Chem.;278:26734-26741.
53. Blaser M. (1996). Role of *vacA* and the *cagA* locus of Helicobacter pylori in human disease. Aliment Pharmacol Ther; 10 (suppl, 1):73-7.
54. Atherton J. (1997) The clinical relevance of strain types of *Helicobacter pylori*. Gut.;40:701-703.
55. Khamri W, Walker MM, Clark P, Atherton JC, Thursz MR, Bamford KB, et al. Helicobacter pylori stimulates dendritic cells to induce interleukin-17 expression from CD4+ T lymphocytes. Infect Immun. 2010;78(2):845-53.
56. Milne, R., Logan, R. P., Harwood, D., Misiewicz, J. J., & Forman, D. (1995). *Helicobacter pylori* and upper gastrointestinal disease: a survey of gastroenterologists in the United Kingdom. Gut, 37(3), 314–318.
57. Wroblewski, L. E., Peek, R. M., & Wilson, K. T. (2010). *Helicobacter pylori* and gastric cáncer: Factor that modelate disease risk. Clinical Microbiology Rewies, 23(4), 713-39.
58. Trajkow D, Stardelova K, Dimitrova M, Misheuski J, Serafimoski V. *Helicobacter pylori* and gastric carcinoma. Prilozi. 2007; 28: 25-38.
59. Ayala Ríos S, Pichilingue Prieto O, Capcha Loyola T, Alba Rodríguez M Pichilingue Reto C, Características clínicas, hallazgos endoscópicos e histológicos en pacientes atendidos en el Hospital nacional Hipólito Unanue, Lima-Perú, durante el año 2010. Lima-Perú, 2013; 33(1):28-33.
60. Azevedo NF, Guimarães N, Figueiredo C, Keevil CW, Vieira MJ. New model for the transmission of *Helicobacter pylori*: role of environmental reservoirs as gene pools to increase train diversity. Crit Rev Microbiol. 2007;33:157–9.

61. Sahara S, Sugimoto M, Vilaichone RK, Mahachai V, Miyajima H, Furuta T, et al. Role of *Helicobacter pylori* *cagA* EPIYA motif and *vacA* genotypes for the development of gastrointestinal diseases in Southeast Asian countries: a meta-analysis. *BMC Infect Dis.* 2012;12:223.
62. Román-Román, Adolfo, et al. "Helicobacter pylori *vacA* s1m1 genotype but not *cagA* or *babA2* increase the risk of ulcer and gastric cancer in patients from Southern Mexico." *Gut pathogens* 9.1 (2017): 18.
63. Shiota, Seiji, et al. "*Helicobacter pylori* from gastric cancer and duodenal ulcer show same phylogeographic origin in the Andean region in Colombia." *PloS one* 9.8 (2014).
64. Achtman M, Azuma T, Berg DE, et al. Recombination and clonal groupings within *Helicobacter pylori* from different geographical regions. *MolMicrobiol* 1999;32:459–70.

ANEXOS

Anexo 1. Aprobación por el Comité Revisor de Protocolos del Departamento de Investigación del INEN.

			
-----------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------	------------------------------------------------------------------------------------	-------------------------------------------------------------------------------------

"AÑO DE LA CONSOLIDACIÓN DEL MAR DE GRAU"

Surquillo, 21 de Marzo del 2016

CARTA N° 025 -2016-CRP-DI-DICON/INEN

Doctor
CARLOS CASTAÑEDA ALTAMIRANO
Investigador Principal
Presente.

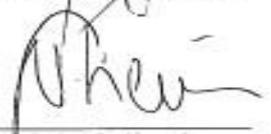
De nuestra consideración:

Es grato dirigirme a usted para saludarlo cordialmente e informarle que el Comité Revisor de Protocolos del Departamento de Investigación del INEN, ha revisado y aprueba el trabajo de Investigación titulado: **"ANÁLISIS DE LA METILACION PRODUCIDA POR LOS AGENTES INFECCIOSOS CAUSANTES DEL CANCER GASTRICO Y SU INTERACCION CON SISTEMA INMUNE HUESPED"** INEN 16-25

De acuerdo con las normas deberá presentar un informe sobre los avances del dicho proyecto, así como las conclusiones del mismo a esta Oficina.

Esperando la respuesta para la respectiva aprobación, quedamos de Usted.

Atentamente,

 Dr. Vásquez Chávez Jule Presidente de Comité Revisor		 Dr. Oderico Belsuzari Padilla Miembro de Comité Revisor
 Dr. Sandro Casavilca Zambrano Miembro de Comité Revisor		 Dr. José Carlos Gutiérrez Lazarte Miembro de Comité Revisor
	 Dra. Marga López Contreras Miembro de Comité Revisor	

INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES NEOPLÁSICAS
Av. Angamos Este 2526, Lima - 34 Tel.: 331-6200 Fax: 620-4801 Web: www.inen.sld.pe e-mail: postmaster@inen.sld.pe

Anexo 2. Aprobación por el Comité Institucional de Ética en Investigación del INEN.

	PERÚ	Ministerio de Salud	Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas	
"AÑO DE LA CONSOLIDACIÓN DEL MAR DE GRAU"				
Surquillo, 11 de abril del 2016				
<u>CARTA N° 139 – 2016 –CIE/INEN</u>				
M.C. CARLOS CASTAÑEDA ALTAMIRANO Investigador Principal				
<u>Presente.</u> –				
REF.: PROTOCOLO: "ANÁLISIS DE LA METILACIÓN PRODUCIDA POR LOS AGENTES INFECCIOSOS CAUSANTES DEL CÁNCER GÁSTRICO Y SU INTERACCIÓN CON SISTEMA INMUNE DEL HUESPED." INEN 16-25				
<u>SOLICITA: REVISIÓN Y APROBACIÓN</u>				
Mediante el presente, tengo a bien dirigirme a usted para informarle que los Miembros del Comité Institucional de Ética en Investigación del INEN, REVISAN Y APRUEBAN la siguiente documentación remitida del PROTOCOLO: "ANÁLISIS DE LA METILACIÓN PRODUCIDA POR LOS AGENTES INFECCIOSOS CAUSANTES DEL CÁNCER GÁSTRICO Y SU INTERACCIÓN CON SISTEMA INMUNE DEL HUESPED." INEN 16-25				
<ul style="list-style-type: none">• Protocolo de Investigación• Consentimiento Informado				
De acuerdo con las normas deberá presentar un informe sobre los avances de dicho proyecto, así como las conclusiones del mismo a esta oficina.				
Atentamente,				
 Dr. ARISTIDES SANJE SÁNCHEZ-LIMÓN Especialista Centro Institucional de Investigación y Diagnóstico Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas				
c.c. - Archivo M.TITO				
<small>INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES NEOPLÁSICAS Av. Argonés Este 2526, Lima – 34 Telf.: 201 - 6500 Fax: 620-4941 Web: www.inen.sld.pe e-mail: postmaster@inen.sld.pe</small>				

Anexo 3. Consentimiento informado y ficha de recolección de datos.

CONSENTIMIENTO INFORMADO

La presente investigación es conducida por el Dr. Carlos A. Castañeda Altamirano. La meta de este estudio es **analizar la metilación producida por los agentes infecciosos causantes del cáncer gástrico y su interacción con sistema inmune del huésped en los pacientes registrados en el Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas.**

Si usted accede a participar en este estudio, se le podría responder las preguntas de la encuesta a continuación, durante un tiempo aproximado de 10 minutos de su tiempo. La participación de este estudio es estrictamente voluntaria. La información que se recoja será confidencial y no se usara para ningún otro propósito fuera de los de esta investigación.

Si tiene alguna duda sobre este proyecto, puede hacer preguntas en cualquier momento consultando en el Departamento de Investigación. Igualmente puede retirarse del proyecto en cualquier momento sin que eso lo perjudique en ninguna forma. Si alguna de las preguntas de la encuesta se le parecen incómodas, tiene usted el derecho hacérselo saber al investigador o de no responderlas.

Desde ya le agradecemos su participación _____

Acepto participar voluntariamente en esta investigación.

Nombre del Participante

Firma del Participante

Fecha

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

DATOS PERSONALES

Nº HISTORIA CLÍNICA:

1. Nombre Completo: _____
2. Lugar de Nacimiento: _____
3. Fecha de Nacimiento: _____ 4. Sexo:5. Edad: _____
6. Lugar de Domicilio: _____
(Departamento) _____ (Provincia) _____
7. Antecedentes personales: Gastritis ___ Úlceras ___ Problemas gástricos permanentes (PGP) ___ Otros ___
8. Antecedentes Familiares: _____

Parentesco	Cáncer gástrico	Gastritis	Úlceras	PGP	Otros