



Universidad de San Carlos de Guatemala
Dirección General de Investigación
Programa Universitario de Investigación
Interdisciplinaria en Salud

INFORME FINAL

“Valor diagnóstico de las proteínas uPAR en sangre para el cáncer gástrico en Guatemala”.

Equipo de investigación

Coordinadora: Irmgardt Alicia María Wellmann Castellanos

Auxiliar de Investigación II: Kensit Tattiana Salguero Molina

2 de agosto de 2016

Centro de Investigaciones Biomédicas
Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de San Carlos
Universidad de Costa Rica
University of Louisville

1. CONTRAPORTADA

M.Sc. Gerardo Arroyo Catalán
Director General de Investigación

Ing. Agr. MARN Julio Rufino Salazar
Coordinador General de Programas

Dra. Hilda Valencia de Abril
Coordinadora del Programa de Investigación Interdisciplinaria en Salud

Dra. Irmgardt Alicia María Wellmann Castellanos
Coordinadora del proyecto

Sra. Kensit Tattiana Salguero Molina
Auxiliar de Investigación II

Partida Presupuestaria
4.8.63.1.77.
Año de ejecución: 2015-2016 (primer trimestre)

2. CONTENIDO

INDICE

	Página
Resumen	6
Abstract	6
Introducción	7
Marco teórico y estado del arte	11
Materiales y métodos	17
Resultados	23
Análisis y discusión de resultados	42
Conclusiones	46
Referencias	48
Apéndice	50
Actividades de gestión, vinculación y divulgación	55

INDICE DE ILUSTRACIONES, FIGURAS Y TABLAS

Ilustraciones			
Imagen	1	Región geográfica de procedencia de los casos presentados	p.27
Figuras			
Fotografía	1	Rotulación de los tubos de ensayo utilizados con cada participante	p. 49
Fotografía	2	Obtención de muestra sanguínea de cada participante con colaboración de médico anesthesiólogo del INCAN.	p. 49
Fotografía	3	Balanceo de los tubos de ensayo previo a su centrifugación.	p. 49
Fotografía	4	Centrifugación en frío de las muestras sanguíneas de los participantes del estudio, para la separación posterior de suero y plasma.	p. 50
Fotografía	5	Rotulación de los criotubos utilizados en el almacenaje del suero y plasma.	p. 50
Fotografía	6	Pipeteo para separación del suero y plasma obtenidos de la muestra de cada participante.	p. 50
Fotografía	7	Pipeteo para separación del suero y plasma obtenidos de la muestra de cada participante.	p. 51
Fotografía	8	Almacenaje de las muestras que permanecerán congeladas a -80°C para su conservación hasta el momento del procesamiento.	p. 51
Fotografía	9	Muestras congeladas a -80°C para su conservación hasta el momento del procesamiento.	p. 51
Fotografía	10	Revisión y archivo de los consentimientos informados, hojas de información general, registro de laboratorio y hoja de patología de los participantes del estudio.	p. 52
Fotografía	11	Realización de serología para H. pylori por método de ELISA a todos los participantes del estudio.	p. 52
Fotografía	12	Realización de serología para H. pylori por método de ELISA a todos los participantes del estudio.	p. 52
Fotografía	13	Placa de ELISA para determinación de anticuerpos IgG contra H. pylori.	p. 53
Fotografía	14	Equipo de investigación. Centro de Investigaciones Biomédicas, Facultad de Ciencias Médicas.	p. 53
Gráfica	1	Número de sitios anatómicos abarcados por la neoplasia	p. 23
Gráfica	2	Sitios anatómicos abarcados por la neoplasia	p. 23
Gráfica	3	Clasificación de Borrmann	p. 24
Gráfica	4	Tipo tumoral	p. 24
Gráfica	5	Tipo tumoral por sexo	p. 25
Gráfica	6	Clasificación histológica del adenocarcinoma gástrico	p. 25
Gráfica	7	Casos presentados por etnia	p. 27
Gráfica	8	Serología para H. pylori y su factor de virulencia cagA obtenida en los casos	p. 28
Gráfica	9	Serología para H. pylori y su factor de virulencia cagA obtenida en los controles	p. 29
Gráfica	10	Comparación de concentraciones de uPAR obtenidas en casos y controles	p. 33
Gráfica	11	Comparación de concentraciones de uPAR obtenidas por tipo tumoral	p. 34
Gráfica	12	Comparación de concentraciones de uPAR obtenidas por número de sitios anatómicos abarcados por la neoplasia	p. 35
Gráfica	13	Comparación de concentraciones de uPAR obtenidas por localización anatómica del cáncer gástrico	p. 36
Gráfica	14	Comparación de concentraciones de uPAR obtenidas por localización anatómica del cáncer gástrico	p. 37

Gráfica	15	Comparación de concentraciones de uPAR obtenidas por histología	p. 38
Gráfica	16	Curva ROC para las cuantificaciones de uPAR en neoplasia gástrica	p. 39
Gráfica	17	Curva de sensibilidad y especificidad para las cuantificaciones de uPAR en neoplasia gástrica	p. 40

Tablas

Tabla	1	Casos y controles por sexo	p. 22
Tabla	2	Casos y controles obtenidos por institución	p. 22
Tabla	3	Características etarias de los casos presentados	p. 26
Tabla	4	Región geográfica de procedencia de los casos presentados	p. 26
Tabla	5	Presentación de serología para H. pylori y su factor de virulencia cagA	p. 28
Tabla	6	Estadística descriptiva para las cuantificaciones de uPAR obtenidas en los casos	p. 29
Tabla	7	Estadística descriptiva para las cuantificaciones de uPAR obtenidas en los controles	p. 30
Tabla	8	Comparación de dos medias independientes	p. 30
Tabla	9	Prueba de chi cuadrado para H. pylori, cagA y casos/controles	p. 32

“Valor diagnóstico de las proteínas uPAR en sangre para el cáncer gástrico en Guatemala”.

3. Resumen

El cáncer gástrico es la neoplasia más frecuente del tubo digestivo, Guatemala posee tasas de incidencia y de mortalidad altas. La infección con la bacteria *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) se ha establecido como una de las fuerzas impulsoras de la carcinogénesis gástrica y se ha determinado que la infección con cepas que expresen el factor de virulencia CagA está asociado con lesiones atróficas y precancerosas. Se ha informado que el análisis por Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real de biopsias del cuerpo gástrico, muestran un incremento significativo de la expresión del activador del plasminógeno de tipo uroquinasa (uPA), su receptor (uPAR) y su inhibidor (PAI-I) en pacientes positivos para *H.pylori*, asimismo se conoce el valor pronóstico y la utilidad de la proteína uPA y su receptor uPAR en diferentes tipos de cáncer. En la presente investigación se planteó determinar el valor diagnóstico de las variantes uPAR en sangre como marcador del riesgo de cáncer gástrico en Guatemala, así como la asociación entre la concentración de uPAR y la infección con cepas de *H. pylori* positivas para CagA dentro de la población. A los participantes se les tomó una muestra de sangre realizándoseles pruebas serológicas de *H. pylori* y cagA, se llenó una hoja de información general y sobre factores que afectan el estado del estómago además del consentimiento informado. El proyecto se desarrolló en el Instituto de Cancerología, Hospital Roosevelt y Centro de Investigaciones Biomédicas, con cooperación del Instituto de Investigaciones en Salud. Palabras claves: Cáncer gástrico, diagnóstico, proteínas uPAR, cagA, *H. pylori*

4. Abstract

Gastric cancer is the most common malignancy of the digestive tract, Guatemala has incidence rates and high mortality. Infection with the bacterium *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) has established itself as one of the driving forces for gastric carcinogenesis and it has been determined that infection with strains expressing the virulence factor CagA is associated with atrophic and precancerous lesions.

It is reported that the analysis by polymerase chain reaction in real time biopsy of the gastric body, show a significant increase in the expression of plasminogen activator urokinase (uPA), its receptor (uPAR) and its inhibitor (PAI -I) in patients positive for *H. pylori*, is also known the prognostic value and usefulness of the uPA and uPAR protein in different cancers. In this investigation it was raised to determine the diagnostic value of uPAR variants in blood as a marker of the risk of gastric cancer in Guatemala, as well as the association between the concentration of uPAR and infection with strains of *H. pylori* positive for CagA within the population.

Were collected blood samples of the participants and were made serological tests for *H. pylori* and cagA, a general information sheet was filled and factors affecting the state of the stomach besides informed consent. The project was developed at Instituto de Cancerología, Hospital Roosevelt and Centro de Investigaciones Biomédicas, with cooperation of Instituto de Investigaciones en Salud.

Keywords: Gastric cancer, diagnosis, uPAR proteins, cagA *H. pylori*

5.Introducción

Planteamiento del problema

Descripción del problema

El cáncer gástrico es la neoplasia más frecuente del tubo digestivo en el mundo y según datos de la Organización Mundial de la Salud a través del proyecto Globocan se informa que ocupa el quinto lugar alrededor del mundo y tiene una incidencia del 6.8% y una mortalidad de 8.8% (Globocan, 2012). En Guatemala presenta una tendencia al aumento sostenido, registrándose cada año un mayor número de casos nuevos (Instituto de Cancerología, 2012).

Existen diversos factores de riesgo para padecer de este tipo de cáncer entre los que se encuentran la edad avanzada, el sexo masculino, factores genéticos relacionados con el complejo mayor de histocompatibilidad(HLA), pobreza, dieta e infección por *Helicobacter pylori* (*H. pylori*), sobrepeso u obesidad, entre otros (American Cancer Society, 2010) (Herrera-Goepfert, 2004).

Sin embargo, la infección con *H. pylori* es causa mayor de cáncer gástrico, especialmente en cáncer de la parte distal del estómago y fue categorizado por la Agencia Internacional de Investigación sobre el cáncer como carcinógeno humano del grupo 1 (American Cancer Society, 2010) (Nagini, 2012).

El avance en la investigación científica ha permitido identificar que al menos dos factores de virulencia de dicha bacteria (CagA y VacA) se expresan en algunas cepas y las vuelven más agresivas, lo que ocasiona mucho daño en el tejido del estómago (Correa, 2011) (Baryshnikova, 2009) por lo que es necesario profundizar la investigación en la tipificación de las mismas dentro de la población guatemalteca.

Por lo general, la bacteria se ubica en el antro gástrico y a lo largo de los años va afectando el tejido hacia arriba o hacia abajo. En el primer caso puede generar atrofia, metaplasia, displasia y adenocarcinoma, o puede seguir hacia abajo del antro y afectar el píloro y el duodeno, y generar una úlcera duodenal (Portilla, 2011). Adicionalmente, los pacientes con cáncer gástrico tienen un rango mayor de infección por *H. pylori* que las personas sin cáncer. La infección también está ligada a algunos tipos de linfomas gástricos (American Cancer Society, 2010).

Por otro lado existe una mayoría de personas que portan este germen nunca desarrollan cáncer lo que probablemente este relacionado con la susceptibilidad genética del huésped y otros factores entre los que se encuentran los genes de citoquinas que participan en la regulación de la respuesta inflamatoria (Portilla, 2011) (Cañas,2009) (Serrano, Hernández, Salazar y Herrera, 2009).

En el Instituto de Investigaciones en Salud (Inisa), en Costa Rica, se creó el Programa de Especial Interés Institucional sobre la Epidemiología del Cáncer y durante los últimos ocho años se han desarrollado las pruebas para detectar anticuerpos específicos contra antígenos de las islas de patogenicidad y virulencia CagA y VacA de *H. pylori*; y recientemente, un estudio de la uroquinasa Receptora Activador de Plasminógeno (uPAR), que es inducida por la bacteria *H. pylori* en donde se concluyó que esta uroquinasa es un indicador de la presencia de un tumor gástrico y la expresión de uPAR en casos de cáncer gástrico sugiere que su uPAR-positividad puede proporcionar información pronóstica (Portilla, 2011) (Alpízar-Alpízar,2009).

Definición del problema

- ¿Cuál es el valor diagnóstico de las concentraciones de las formas de proteínas uPAR en sangre como marcadores diagnósticos de cáncer gástrico en Guatemala?
- ¿Cuál es la concentración de proteína uPAR intacto y sus productos de rompimiento individual o colectivo en el plasma de la población en estudio?
- ¿Existen diferencias en la concentración en plasma de las diversas formas de proteína uPAR solubles entre pacientes con cáncer gástrico y controles saludables?
- ¿Hay asociación entre la concentración de las diferentes formas de proteína uPAR y la infección con cepas de *H. pylori* positivas para CagA?

Justificación

La Sociedad Americana de Cáncer estima para el cáncer gástrico en 2014:

- Cerca de 22, 220 casos de cáncer gástrico serán diagnosticados (13,730 en hombres y 8,490 en mujeres)
- Cerca de 10,990 de personas fallecerán a causa de este tipo de cáncer (6,720 hombres y 4, 270 mujeres) (American Cancer Society, 2010)

El cáncer gástrico afecta en su mayoría a gente de edad avanzada. El promedio de edad de diagnóstico es 70 años. El riesgo promedio de que una persona desarrolle cáncer gástrico en su vida es de 1 en 116, este riesgo es ligeramente mayor en hombres que en mujeres, y puede verse afectado por un número de otros factores (Nagini, 2012). Es mucho más común en países en vías de desarrollo y su etiología es multifactorial. La infección con la bacteria *H. pylori* se ha establecido como una de las fuerzas impulsoras de la carcinogénesis gástrica. El resultado de la infección está determinado por las características genéticas de la bacteria y de su hospedero, así como por factores ambientales. Las interacciones entre estos factores y el mecanismo por los cuales ellos interfieren con el proceso patológico son en gran parte desconocidos, además, la etiología de la carcinogénesis gástrica puede variar dependiendo de cada población.

Guatemala es uno de los países con tasas de incidencia y de mortalidad más altas de cáncer gástrico en el mundo. La mortalidad es muy alta debido, en la mayoría de los casos, a que el tumor es diagnosticado en una etapa muy avanzada de la enfermedad

cuando es muy probable que el tratamiento falle (Posada-Tánchez, Robles-Girón y Orozco-Méndez, 2010).

Según informes de los casos de cáncer registrados en el Instituto de Cancerología (INCAN) en Guatemala el cáncer gástrico ocupa la cuarta localización más frecuente en ambos sexos y el número de casos ha ido en aumento desde 1999 (INCAN, 2008). Por lo que se enfatiza en señalar la urgencia de establecer políticas nacionales dirigidas a realizar acciones que logren disminuir ese aumento de la incidencia con el fin de evitar que el cáncer se establezca como una nueva epidemia nacional (Globocan, 2012).

El Programa de Epidemiología de Cáncer del INISA/UCR ha tenido como objetivo principal desarrollar metodologías para la identificación de individuos y poblaciones en alto riesgo de desarrollar cáncer gástrico; con este propósito, se plantea evaluar marcadores biológicos en sangre para el riesgo de desarrollar cáncer gástrico (Portilla, 2011) (Une, 2005). Se ha determinado que la infección con cepas de *H. pylori* que expresen el factor de virulencia CagA está asociado con presencia de lesiones atróficas, precancerosas en la misma población.

Recientemente se informó que el análisis por Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (PCR por sus siglas en inglés) de biopsias del cuerpo gástrico, muestran un incremento significativo de la expresión del activador del plasminógeno de tipo uroquinasa (uPA), su receptor (uPAR) y su inhibidor (PAI-I) en pacientes positivos para *H.pylori*, asimismo numerosos estudios han documentado el valor pronóstico y la utilidad de la proteína uPA y su receptor uPAR en diferentes tipos de cáncer (INISA, 2014), razón por la que en este estudio se determinará el valor diagnóstico de las variantes uPAR en sangre como marcador del riesgo de cáncer gástrico en Guatemala ya que entre los métodos de diagnóstico actualmente aceptados para cáncer gástrico, tenemos la realización de endoscopia que constituye un procedimiento invasivo (Posada-Tánchez, 2010) y costoso, sin embargo la cuantificación de proteínas uPAR podría tener valor como un método de tamizaje inicial que además reduciría los gastos, dejando la gastroscopia y biopsia únicamente para aquellos casos que resultaran positivos.

Objetivos

General: determinar las concentraciones de las proteínas uPAR en sangre como marcadores diagnósticos de cáncer gástrico en Guatemala.

Específicos:

Determinar la concentración de proteína uPAR intacto y sus productos de rompimiento individual o colectivamente en el plasma de la población en estudio.

Establecer si existen diferencias en la concentración en plasma de las diversas formas de proteína uPAR solubles entre pacientes con cáncer gástrico y controles saludables.

Establecer si la concentración de las diferentes formas de proteína uPAR están asociadas a la infección con cepas de *H. pylori* positivas para CagA.

Hipótesis: Existe una mayor concentración en plasma de las diversas formas de proteína uPAR solubles entre pacientes con cáncer gástrico comparados con controles saludables.

Marco teórico y estado del arte

Cáncer gástrico

Estadísticas: A nivel mundial

El cáncer gástrico representa una gran carga social. A nivel mundial es la segunda causa de muerte por cáncer (Correa, 2011) y es la neoplasia más frecuente del tubo digestivo (Arana).

La disminución constante en la incidencia y la mortalidad del cáncer gástrico en los países más ricos se ha atribuido a los cambios en el patrón dietético, el almacenamiento de los alimentos y el control de la infección por *H. pylori*.

Se han observado variaciones significativas en la incidencia de cáncer gástrico entre diferentes grupos étnicos que viven en la misma región; los afroamericanos, los hispanos y los nativos americanos se ven más afectados que los caucásicos en los Estados Unidos (Nagini, 2012).

En Guatemala: Según el Informe de los casos de Cáncer registrados en el Instituto de Cancerología (INCAN) durante el año 2008, el cáncer de estómago ocupa la cuarta

localización más frecuente en ambos sexos con un 5.6% (159 casos) del total de casos detectados, siendo así la segunda localización más frecuente en el sexo masculino y la quinta en el sexo femenino. Esta incidencia ha ido en aumento desde 1999 (INCAN, 2008).

En el informe emitido por el Registro del INCAN del año 2012, el cáncer gástrico continuaba ocupando la cuarta posición en frecuencia de ambos sexos con un 5.4% del total de casos detectados (184 casos) pero se evidencia un aumento de casos que según se refiere esta tendencia al aumento sostenido es indicativa del mejoramiento del registro de los casos, pero es también manifestación del aumento de la incidencia del cáncer en nuestro país (INCAN, 2012).

Ubicando la incidencia de cáncer gástrico en Guatemala en un panorama más amplio, vemos que según datos de la Organización Mundial de la Salud a través del proyecto Globocan se informa que nuestro país ocupa el cuarto lugar a nivel mundial (Ferlay, 2012).

Tipos de cáncer gástrico

Adenocarcinoma: Constituye el 90-95% de los cánceres de estómago, es el segundo en frecuencia y el primero en lo que respecta a mortalidad (American Cancer Society, 2010) (Intramed, 2008).

Linfoma: Es un linfoma no hodgkiniano que representa el 5% de todas las neoplasias gástricas malignas se originan a partir del tejido linfoide de la lámina propia de la mucosa y submucosa gástrica y constituye cerca del 4% de los cánceres gástricos (American Cancer Society, 2010) (Pérez, 2011).

Histopatológicamente, más del 90% son linfomas de células B derivados de tejido linfoide asociado a la mucosa (linfomas MALT).

Existe una clara relación causal entre la infección por *H. pylori* y el linfoma MALT de bajo grado de malignidad (Pérez, 2011).

Tumores del estroma gastrointestinal (GIST): Son tumores raros que inician en las células intersticiales de Cajal. Algunos de estos son benignos y otros cancerosos, aunque los GIST pueden encontrarse en cualquier sitio del tracto digestivo, en su mayoría se localizan en el estómago (60%) e intestino delgado (35%) (American

Cancer Society, 2010) (Correa, 2011) y aparecen por lo general a partir de los 60 años de edad (Pérez, 2011).

Tumores carcinoides: Constituyen cerca de 3% los cánceres gástricos, son tumores que inician en las células productoras de hormonas del estómago (American Cancer Society, 2010).

Otros cánceres: Carcinoma de células escamosas, carcinoma de células pequeñas y leiomiomas son bastante infrecuentes.

Factores de riesgo

Entre los factores de riesgo encontramos que el cáncer gástrico es más común en hombres que en mujeres (American Cancer Society, 2010) y existe un fuerte aumento en las personas mayores de 50 años, la edad de diagnóstico generalmente es entre los 60 y 80 años (American Cancer Society, 2010).

En Guatemala, según un trabajo de tesis realizado en 2002 sobre caracterización de pacientes con cáncer gástrico, se encontró que la neoplasia predomina en la etnia ladina (Rodas-Morales, 2002).

Así también la tasa de infección por *H. pylori* es mayor en los pacientes con cáncer gástrico.³ Aquellos que padecen de linfoma de tipo MALT tienen un riesgo aumentado de que este se transforme en un adenocarcinoma gástrico lo cual se debe probablemente a que éste es causado por una infección por *H. pylori* (American Cancer Society, 2010).

Entre las prácticas alimenticias y hábitos encontramos las dietas que tienen grandes cantidades de alimentos ahumados, pescado seco, carne y vegetales en escabeche, el tabaquismo así como tener sobrepeso o ser obeso (American Cancer Society, 2010).

H. pylori

A pesar de que la etiología del cáncer gástrico es multifactorial, más del 80% de los casos han sido atribuidos a la infección por *H. pylori*.

En 1994, la Agencia Internacional de Investigación sobre el cáncer, categorizó a *H. pylori* como carcinógeno humano del grupo 1 basados en una plétora de estudios (Nagini, 2012).

Microbiología y métodos diagnósticos

H. pylori es un bacilo Gram negativo, microaerofílico, con forma espiral que tiene una pared celular lisa, cubierta por un glucocálix. El bacilo posee dos a seis flagelos unipolares, la envoltura tiene una doble capa de lípidos que se extiende como una continuación de la bacteria hasta el extremo de la membrana celular.

Las técnicas disponibles para detectar la presencia de *H. pylori* incluyen la prueba rápida de la ureasa (basada en agar/sangre); el examen histológico de la mucosa gástrica, los cultivos bacteriológicos, la reacción en cadena de la polimerasa para identificar componentes de la ureasa; las pruebas serológicas mediante la técnica de ELISA en la que se determina la presencia de anticuerpos de tipo IgG dirigidos contra el bacilo así como la prueba de aliento para detectar ureasa mediante carbono 13 o 14. La caracterización estructural, molecular y genética del *H. pylori* permiten explicar porque no todos los pacientes infectados por el bacilo desarrollan cáncer gástrico. Los autores señalan que la variabilidad genómica detectada en las cepas de *H. pylori* modifica su comportamiento y su capacidad para inducir lesiones premalignas y malignas (Serrano, 2009)-

Factores de virulencia

La virulencia de la cepa infecciosa está determinada principalmente por dos genes que definen la secreción de dos toxinas principales: la toxina citotóxica la define el gen *cagA* (cytotoxin associated gene) mientras que la toxina vacuolizadora está definida por el gen *vacA* (vaculating cytotoxin). Ambos genes son polimorfos. El gen *cagA* hace parte de un conjunto de aproximadamente 40 genes denominados “la isla de capacidad patógena” que no está presente en todas las cepas (Correa, 2011).

cagA: Citotoxina, un marcador de la “isla de patogenicidad” de *H. pylori*, que interviene en la remodelación tisular, angiogénesis, ulceración, el desarrollo de atrofia, en el proceso de degradación y destrucción de la matriz extracelular y de la membrana

basal, en la invasión tumoral y metástasis mediante la inducción de los complejos uPA (activador de plasminógeno tipo urocinasa) y uPAR (receptor del activador de plasminógeno tipo urocinasa) en las células cancerosas del estómago, en la estimulación de la producción de interleucina 8, y promueve la actividad de la gastritis antral (Baryshnikova, 2009).

vacA: Citotoxina, un factor que mejora la adherencia, que incrementa la permeabilidad de la membrana a los aniones, está confirmado que reduce la tasa de reepitelización de úlceras experimentales y la proliferación de células epiteliales mediante la disfunción celular relacionada a la integridad de su citoesqueleto, el transporte pasivo de urea a través de células epiteliales gástricas, afecta la supervivencia de *H. pylori* en las células huésped, reduce el contenido de ATP en la células epiteliales, y estimula el proceso de apoptosis (Baryshnikova, 2009).

Prevalencia de la infección

A nivel mundial: Actualmente, aproximadamente 50% de la población mundial está infectada por *H. pylori*. La prevalencia de la infección varía marcadamente en diferentes países de Asia presentando mayores tasas de seroprevalencia en aquellos países en vías de desarrollo que en países industrializados (Nagini, 2012) (Posada-Tánchez, 2010) (Serrano, 2009).

En Guatemala: La prevalencia es del 65% en adultos mayores de 21 años, mientras que en los niños de 5 a 10 años la prevalencia es del 51%. La tasa de infección es aún mayor en los grupos poblacionales de condición socioeconómica baja, así la prevalencia entre adultos guatemaltecos con dispepsia es de 86.3% en un grupo de condición socioeconómica baja y del 63.7% en su contraparte con una mejor condición socioeconómica (Posada-Tánchez, 2010).

Relación de uPAR con *H. pylori* y el cáncer gástrico

Entre los eventos claves para el desarrollo y progresión del cáncer está la invasión de células neoplásicas al tejido normal adyacente y eventualmente la metástasis. La invasión y la metástasis son facilitadas por un número de proteinasas capaces de degradar la matriz extracelular. La plasmina puede degradar la mayoría de proteínas de

la matriz extracelular como la fibrina, la fibronectina y la laminina y además puede activar otras proteinasas degradadoras de la matriz.

La plasmina se forma en la superficie de las células después de una escisión proteolítica de su plasminógeno zimógeno por el activador de plasminógeno tipo urocinasa (uPA). uPa media la activación del plasminógeno después de la unión de alta afinidad a su receptor específico uPAR.

uPAR es visto predominantemente en las células inflamatorias y en menor medida, en las células cancerosas en áreas de invasión del cáncer en varios tipos de cáncer incluyendo el gástrico, de colon, de mama y oral. En las lesiones de cáncer gástrico, la expresión de uPAR se ha observado en macrófagos, células endoteliales y células cancerígenas localizadas en la parte delantera invasiva de los tumores.

La expresión aumentada del antígeno de uPAR o ARNm en extractos de tejido y sangre de pacientes con cáncer gástrico han sido asociados con algunos aspectos clínico-patológicos de la enfermedad incluyendo un pobre pronóstico. Interesantemente, estudios de aspirados de medula ósea de pacientes con resección curativa de cáncer gástrico muestran que esos casos con células cancerígenas uPAR-positivas diseminadas en la medula ósea tienen peor pronóstico que los pacientes con células cancerígenas diseminadas uPAR-negativas.

También fue reportada, una significativa asociación entre los altos niveles de expresión de uPAR en tumores primarios y células tumorales diseminadas Upar-positivas. Estas observaciones sugieren que el elevado nivel de expresión de uPAR en tumores y particularmente en células cancerígenas puede ser una indicación de cánceres gástricos más agresivos. Sin embargo, la expresión de uPAR en células cancerígenas puede representar un importante marcador pronóstico para pacientes con cáncer gástrico. Además, estudios en líneas celulares de cáncer gástrico han reportado un incremento en los niveles de ARNm de uPAR cuando las células neoplásicas se co-cultivaron con *H. pylori*, sugiriendo que *H. pylori* puede inducir la expresión de uPAR en la mucosa gástrica. Esto puede ligar a uPAR con pasos tempranos de la carcinogénesis gástrica, lo cual contribuye a explicar la asociación entre *H. pylori* y el cáncer gástrico y la correlación observada entre las tasas de incidencia de esta neoplasia y la prevalencia de la bacteria (Alpizar-Alpizar, 2009).

6. Materiales y métodos

Descripción y delimitación en tiempo y espacio de la propuesta

El proyecto de investigación se desarrolló en las instalaciones del Instituto de Cancerología (INCAN), en el Hospital Roosevelt y en el Centro de Investigaciones Biomédicas de la Facultad de Ciencias Médicas.

Período de la investigación: Febrero 2015- Marzo 2016

Tipo de investigación: No experimental. Casos y Controles.

Técnicas e instrumentos:

Todos los participantes (casos y controles) tuvieron que:

- Llenar una hoja de información general y sobre factores que afectan el estado del estómago.
- Firmar un consentimiento informado.
- Estar en ayunas para la toma de la muestra de sangre.

A cada participante se le asignó un número interno del proyecto. Este número fue exclusivo para cada participante (un número asignado a una persona nunca se usa para otra persona aunque la primera persona por alguna razón fuera excluida del estudio).

Cada muestra y hoja usada en el estudio (hoja de información, consentimiento informado, hoja de patología, tubos de sangre, plasma, suero, leucocitos etc.) llevaba el número interno del sujeto.

El procesamiento de las muestras: se realizó por métodos estandarizados en el Centro de Investigaciones Biomédicas de la Facultad de ciencias médicas de la Universidad de San Carlos, en el Inisa y en el Laboratorio de Patología de la Universidad de Louisville.

Recolección de datos:

Casos: Las muestras se recolectaron de los pacientes de la consulta del INCAN, Hospital Roosevelt y GastroCentro que cumplan los criterios de inclusión y que acepten participar en el estudio.

Controles: Las muestras serán recolectadas de los pacientes que acudan al Laboratorio del Centro de Investigaciones Biomédicas, Hospital Roosevelt e INCAN que cumplan los criterios de inclusión y que acepten participar en el estudio.

Muestreo

El cálculo de la muestra se realizó a través del programa EPIDAT, en función de la variable proteínas uPAR y por medio de un contraste o prueba de hipótesis, obteniendo un grupo de **64 pacientes casos** y otro grupo de **128 pacientes control** que serán apareados por sexo y edad (± 3 años) en relación de 2 controles por cada caso.

Tamaños de muestra y potencia para comparación de medias independientes

Diferencia de medias estandarizada: 0.500
Razón entre muestras (B/A): 2.000
Nivel de confianza: 95.0%

Potencia (%)	Tamaño de muestra	
	Población A	Población B
90.0	64	128

Casos: Pacientes con adenocarcinoma gástrico distal/o proximal, incluyendo el cardias del estómago que acepten participar en el estudio.

La toma de sangre tiene que hacerse antes de la cirugía. La operación y los procedimientos asociados alteran los resultados.

Controles: se elegirán dos controles por cada caso de cáncer. El mismo sexo y edad ± 3 años.

Tanto los casos como los controles cumplieron correspondientemente con los criterios de inclusión y exclusión que se muestran a continuación:

CASOS

CRITERIOS DE INCLUSIÓN	DE	CRITERIOS DE EXCLUSIÓN
Adenocarcinoma gástrico distal/o proximal, incluyendo el cardias del estómago.		1. Pacientes operados por enfermedad remanente (operados previamente de cáncer gástrico) o por tumores secundarios (tumores metastásicos que derivan de otros órganos)
Mayores de edad		2. Pacientes que sean tratados por linfoma de MALT u operados por cualquier otra enfermedad gástrica diferente de adenocarcinoma gástrico
		3. Pacientes que han recibido previo a la cirugía:

	quimio/radioterapia, 4. Pacientes con patologías autoinmunes diagnosticadas previamente.
--	---

CONTROLES

CRITERIOS DE INCLUSIÓN	DE	CRITERIOS DE EXCLUSIÓN
Mayores de edad		1. Personas con cáncer u operados por tumores primarios 2. Personas operados por enfermedad remanente (operados previamente de cáncer gástrico) o por tumores secundarios (tumores metastásicos que derivan de otros órganos) 3. Personas que sean tratados por linfoma de MALT u operados por cualquier otra enfermedad gástrica diferente de adenocarcinoma gástrico 4. Personas que han recibido quimio/radioterapia 5. Personas con patologías autoinmunes diagnosticadas previamente. 6. Personas con cáncer diagnosticado previamente

Operacionalización de las variables

Variab le	Definición conceptual	Definición operacion al	Tipo de varia ble	Escala de medicio n	Criterios de clasificacio n
Edad	Tiempo de existencia desde el nacimiento	Mayores de 18 años	Cuan titati va	De Razón	Años
Sexo	Conjunto de caracteres que diferencian a los machos de las hembras en los organismos heterogaméticos.	Hombres/ Mujeres	Cuali tativa	Nominal	Hombre Mujer
Cáncer gástrico	Tipo de crecimiento celular maligno originado en el estómago con capacidad de invasión y destrucción de otros tejidos y órganos	Diagnósti co de cáncer gástrico	Cuali tativa	Nominal	Adenocarci noma gástrico distal o proximal
Proteín a uPAR	Glicoproteína multidominio atado a la membrana celular con un ancla glicosil-	Proteína expresada	Cuan titati	De Razón	pg/dL

	fosfatidilinositol	en canceres.	va		
Serología <i>H.pylori</i>	Estudio que permite comprobar la presencia de anticuerpos en sangre para factores de virulencia de <i>H. pylori</i>	Evaluación de factores de virulencia.	Cualitativa	Nominal	Positiva para CagA Negativa para CagA

Procesamiento de la sangre

Se realizó la toma de muestras de los participantes del estudio de la manera siguiente:

Plasma EDTA.

1. Se tomaron dos muestras de sangre en 2 Vacutainer K2EDTA de 4 ml cada uno para obtener al final un total de 8 ml de sangre.
2. Se anotó la hora de toma de muestra, las muestras fueron colocadas en una hielera para su transporte en cadena de frío hasta su procesamiento dentro de la hora siguiente a la recolección.
3. Se centrifugó los tubos a 2500g durante 10 min a una temperatura entre 4 y 8°C.
4. Inmediatamente después de la centrifugación, se pipeteó el plasma y se colocó en criotubos de 2ml.
5. Los criotubos fueron guardados en un congelador a una temperatura entre -70 y -80°C hasta su posterior procesamiento para las diferentes pruebas de laboratorio.

Suero

1. Se tomó una muestra de sangre en 1 tubo Vacutainer sin aditivo de 8ml.
2. Se anotó la hora de toma de muestra, las muestras fueron colocadas en una hielera para su transporte en cadena de frío hasta su procesamiento dentro de la hora siguiente a la recolección.
3. Se centrifugó los tubos a 2500g durante 10 min a una temperatura entre 4 y 8°C.

4. Inmediatamente después de la centrifugación, se pipeteó el suero y se colocó en criotubos de 2ml.
5. Los criotubos fueron guardados en un congelador a una temperatura entre -70 y -80°C hasta su posterior procesamiento para las diferentes pruebas de laboratorio.

Serología para *H. pylori*

La serología para la bacteria *H. pylori* fue realizada en 3 sitios distintos, como sigue:

- Guatemala (Centro de Investigaciones Biomédicas)
La determinación de la serología para *Helicobacter pylori* IgG, se realizó a través de 2 kits comerciales de ELISA IgG de la casa Human, siguiendo las especificaciones del fabricante.
- Costa Rica (Instituto de Investigaciones en Salud -INISA-)
La determinación de la serología para *Helicobacter pylori* IgG, se realizó a través de test ELISA in-house siguiendo la metodología validada previamente.
- Nueva York (Hospital de Nueva York)
La determinación de la serología para *Helicobacter pylori* IgG, se realizó a través de test ELISA in-house siguiendo la metodología validada previamente.

Serología para factor de virulencia *cagA* de *H. pylori*

La determinación de la serología para el factor de virulencia *cagA* de *Helicobacter pylori* tipo IgG, se realizó a través de test ELISA in-house siguiendo la metodología validada previamente por el Dr. Guillermo Pérez-Pérez en el laboratorio del Hospital de Nueva York.

Cuantificación de uPAR en plasma

La determinación cuantitativa de las proteínas Upar se realizó a través del kit comercial Quantikine® ELISA Human uPAR Immunoassay de la casa R&D Systems, Inc., siguiendo las especificaciones del fabricante. Dicha prueba fue

llevada a cabo en el Laboratorio de Patología de la Universidad de Louisville
por el Dr. Gabino Fernández-Bostrán.

7. Resultados

TABLA No. 1
Casos y controles por sexo

	Casos	Controles	Total
Hombre	38	76	114
Mujer	30	60	90
Total	68	136	204

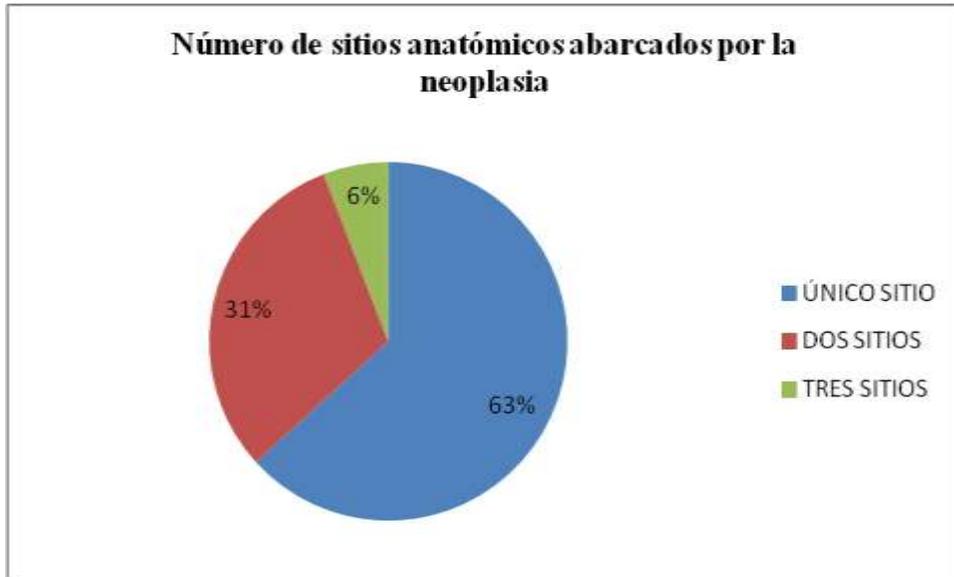
Fuente: base de datos del proyecto “Valor diagnóstico de las proteínas uPAR en sangre para el cáncer gástrico en Guatemala”

TABLA No. 2
Casos y controles obtenidos por institución

	INCAN	HR	CIB	GC	
Casos	39	28	0	1	68
Controles	58	36	42	0	136
Total	97	64	42	1	204

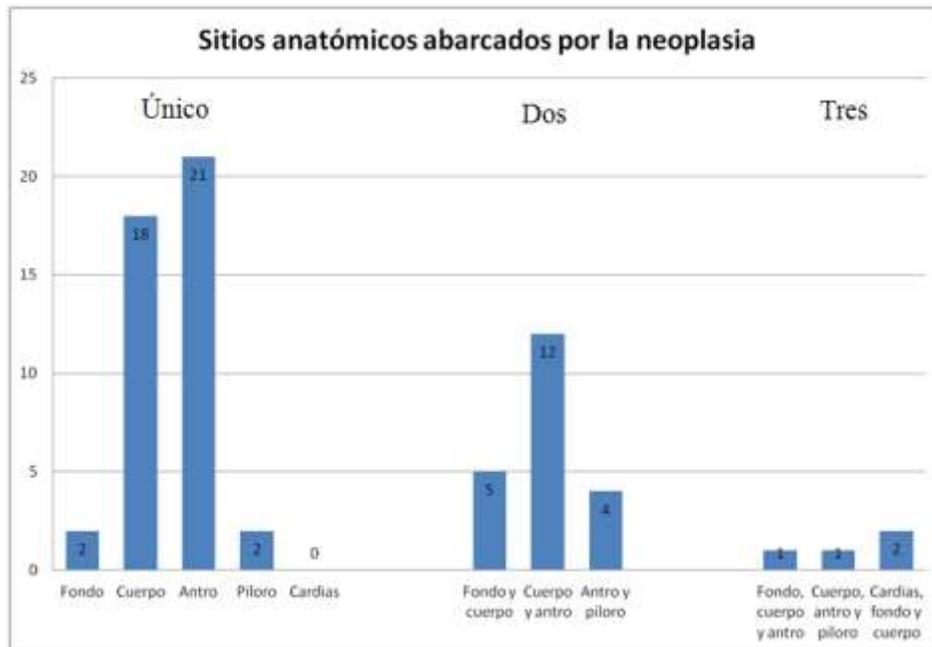
INCAN: Instituto de Cancerología, HR: Hospital Roosevelt, CIB: Centro de Investigaciones Biomédicas
Fuente: base de datos del proyecto “Valor diagnóstico de las proteínas uPAR en sangre para el cáncer gástrico en Guatemala”

GRÁFICA No. 1



Fuente: base de datos del proyecto “Valor diagnóstico de las proteínas uPAR en sangre para el cáncer gástrico en Guatemala”

GRÁFICA No. 2



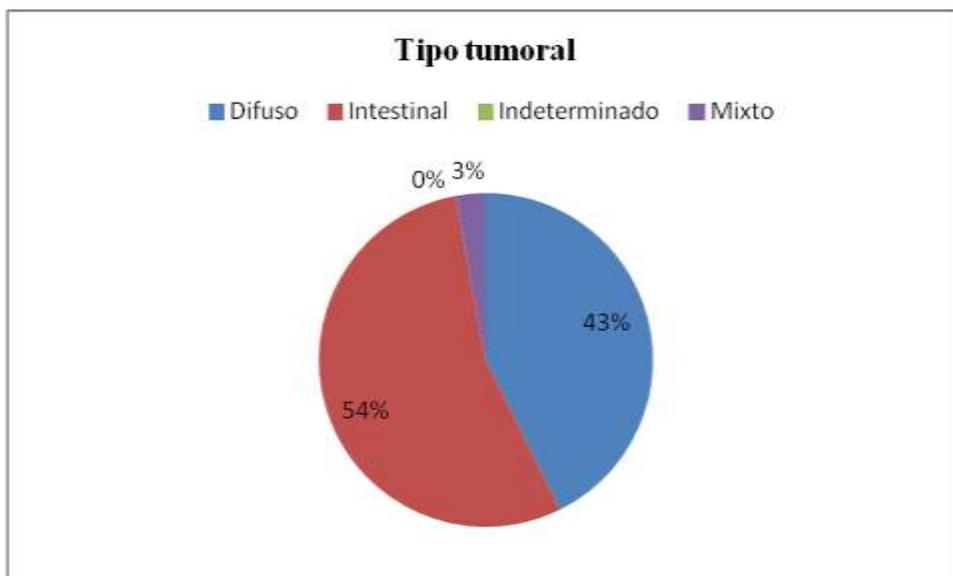
Fuente: base de datos del proyecto “Valor diagnóstico de las proteínas uPAR en sangre para el cáncer gástrico en Guatemala”

GRÁFICA No. 3



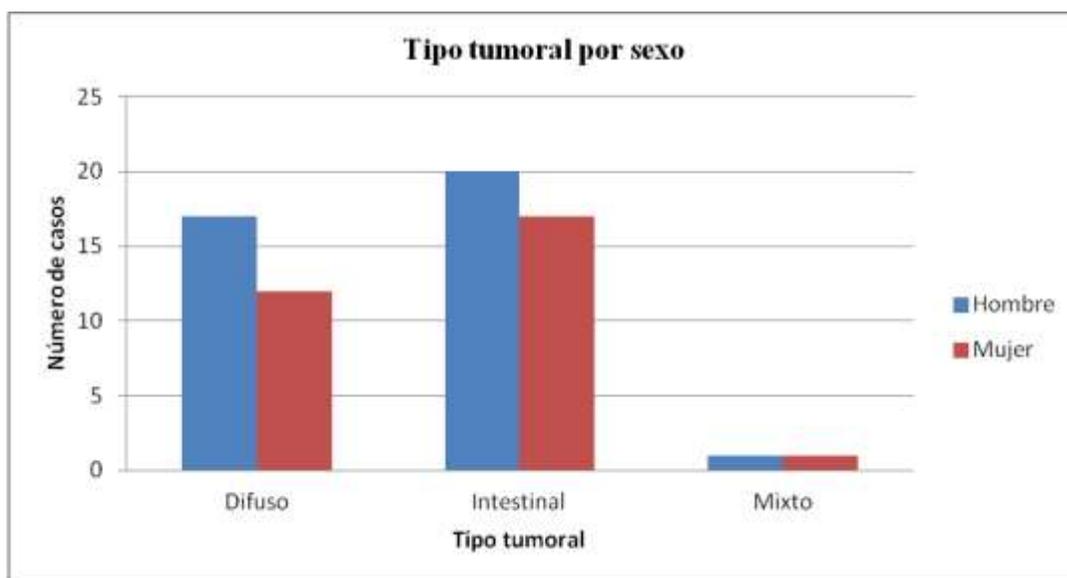
Fuente: base de datos del proyecto “Valor diagnóstico de las proteínas uPAR en sangre para el cáncer gástrico en Guatemala”

GRÁFICA No. 4



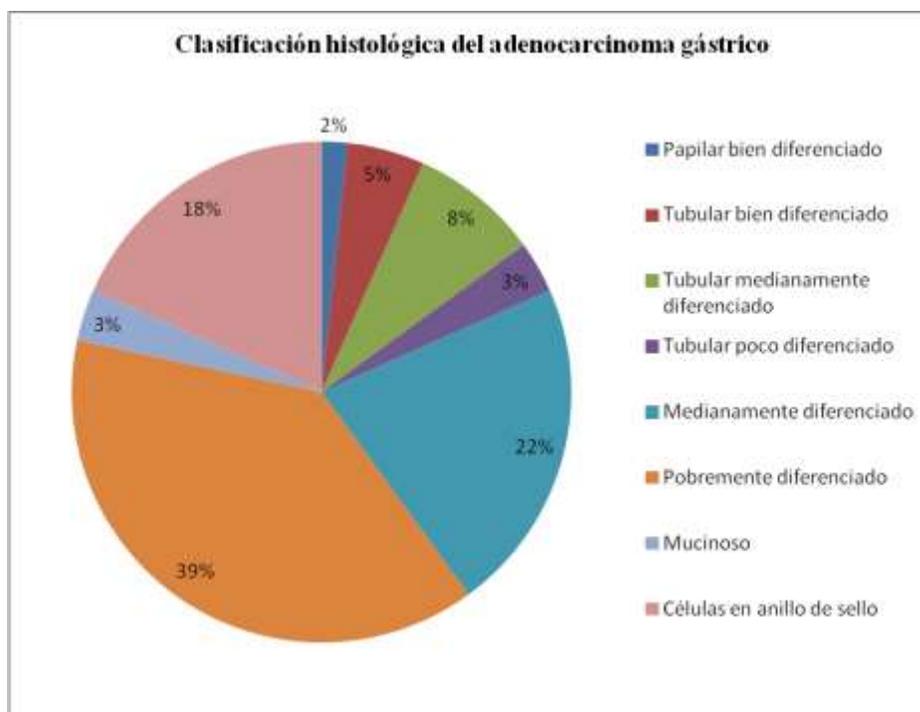
Fuente: base de datos del proyecto “Valor diagnóstico de las proteínas uPAR en sangre para el cáncer gástrico en Guatemala”

GRÁFICA No. 5



Fuente: base de datos del proyecto “Valor diagnóstico de las proteínas uPAR en sangre para el cáncer gástrico en Guatemala”

GRÁFICA No. 6



Fuente: base de datos del proyecto “Valor diagnóstico de las proteínas uPAR en sangre para el cáncer gástrico en Guatemala”

TABLA No. 3

Características etarias de los casos presentados

	HOMBRES	MUJERES
RANGO	26 a 82	24 a 81
PROMEDIO	60	57
MODA	63	49

Fuente: base de datos del proyecto “Valor diagnóstico de las proteínas uPAR en sangre para el cáncer gástrico en Guatemala”

TABLA No. 4

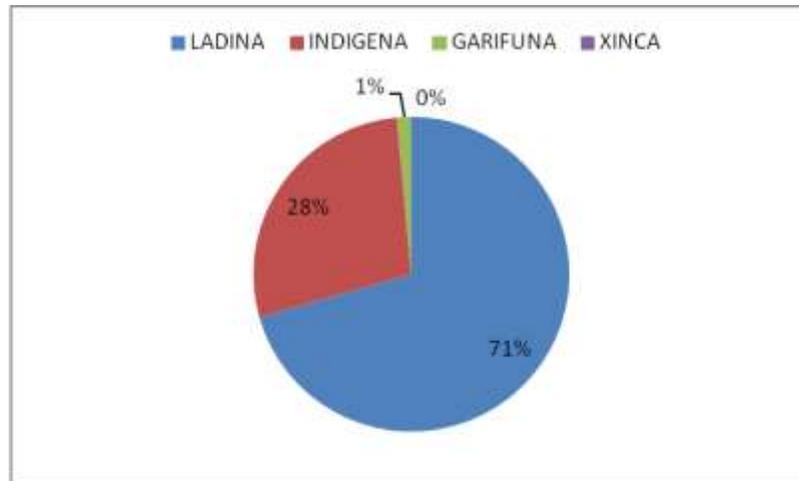
Región geográfica de procedencia de los casos presentados

REGION	# DE CASOS	%
METROPOLITANA	12	18%
NORTE	5	7%
NOR-ORIENTE	5	7%
SUR-ORIENTE	18	27%
CENTRAL	11	16%
SUR-OCCIDENTE	11	16%
NOR-OCCIDENTE	6	9%
PETEN	0	0%

Fuente: base de datos del proyecto “Valor diagnóstico de las proteínas uPAR en sangre para el cáncer gástrico en Guatemala”

GRÁFICA No. 7

Casos presentados por etnia



Fuente: base de datos del proyecto “Valor diagnóstico de las proteínas uPAR en sangre para el cáncer gástrico en Guatemala”

IMÁGEN No. 1

Región geográfica de procedencia de los casos presentados

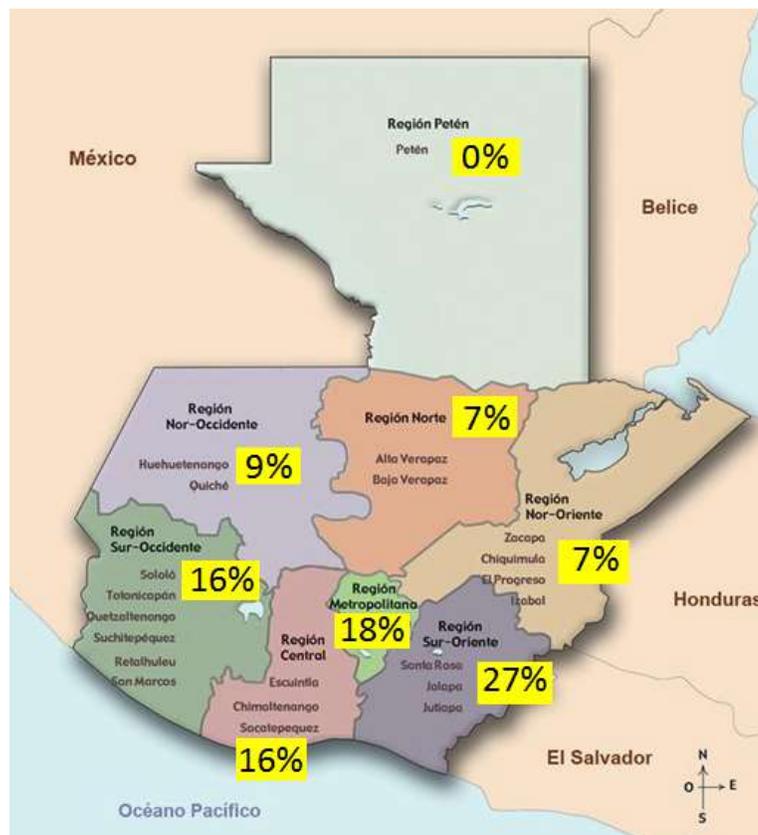


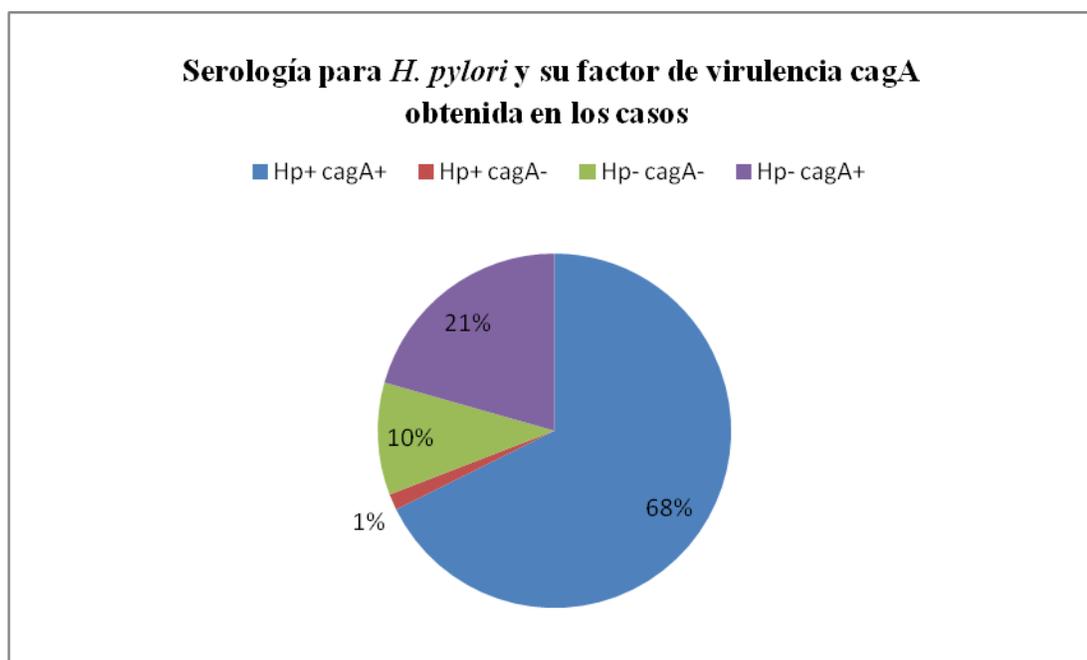
TABLA No. 5

Presentación de serología para *H. pylori* y su factor de virulencia cagA

	Hp+ cagA+	%	Hp+ cagA-	%	Hp- cagA-	%	Hp- cagA+	%	Total
Casos	46	67.6470588	1	1.47058824	7	10.2941176	14	20.5882353	68
Controles	66	48.5294118	7	5.14705882	30	22.0588235	33	24.2647059	136
	112	54.9019608	8	3.92156863	37	18.1372549	47	23.0392157	204

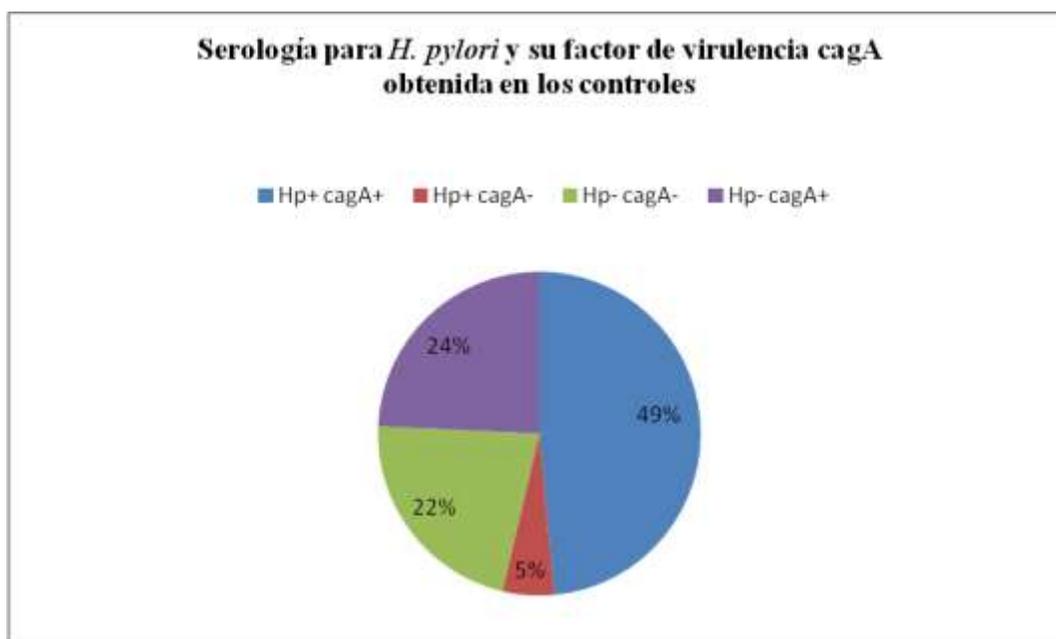
Fuente: base de datos del proyecto “Valor diagnóstico de las proteínas uPAR en sangre para el cáncer gástrico en Guatemala”

GRÁFICA No. 8



Fuente: base de datos del proyecto “Valor diagnóstico de las proteínas uPAR en sangre para el cáncer gástrico en Guatemala”

GRÁFICA No. 9



Fuente: base de datos del proyecto “Valor diagnóstico de las proteínas uPAR en sangre para el cáncer gástrico en Guatemala”

TABLA No. 6

Estadística descriptiva para las cuantificaciones de uPAR obtenidas en los casos

	u PAR (pg/dL)
n	68
Media	4.480,354
Mediana	3.152,242
Desviación estándar	3.680,096
Varianza	13.543.103,384
Mínimo	1.330,824
Máximo	20.000
Cuartiles	
P25	2.375,332
P50	3.152,242
P75	5.104,852
Asimetría	2,559
Curtosis	7,403

Fuente: base de datos del proyecto “Valor diagnóstico de las proteínas uPAR en sangre para el cáncer gástrico en Guatemala”

TABLA No. 7

Estadística descriptiva para las cuantificaciones de uPAR obtenidas en los controles

	u PAR (pg/dL)
n	136
Media	2.149,172
Mediana	2.006,61
Desviación estándar	839,927
Varianza	705.477,864
Mínimo	942,69
Máximo	8.286,274
Cuartiles	
P25	1.647,178
P50	2.006,61
P75	2.491,928
Asimetría	3,159
Curtosis	19,428

Fuente: base de datos del proyecto “Valor diagnóstico de las proteínas uPAR en sangre para el cáncer gástrico en Guatemala”

TABLA No. 8

Comparación de dos medias independientes

	CASOS	CONTROLES
Media	4.480,354	2.149,172
Desviación estándar	3.680,096	839,927
Tamaño de muestra	68	136

Resultados:

Prueba de comparación de varianzas (Levene)

Estadístico W	gl numerador	gl denominador	Valor p
62,123	1	202	0,000

gl: grados de libertad

Intervalo de confianza (95,0%)

Diferencia de medias	Varianzas	Límite inferior	Límite superior
2.331,183	Igual	1.678,739	2.983,626
2.331,183	Desiguales	1.429,817	3.232,548

Prueba de comparación de medias (varianzas iguales)

Contraste	Estadístico t	gl	Valor p
Bilateral	7,045	202	0,000

gl: grados de libertad

Prueba de comparación de medias (varianzas desiguales)

Contraste	Estadístico t	gl	Valor p
Bilateral	5,157	70,512	0,000

gl: grados de libertad

Al obtener un Valor-P de 0.000, con estos datos se puede decir que existe suficiente evidencia estadística para rechazar la Hipótesis Nula (Igualdad de medias), es decir si existe diferencia significativa en las medias de los casos y los controles con la variable uPAR (pg/dL).

TABLA No. 9Prueba de chi cuadrado para *H. pylori*, *cagA* y casos/controles

		Cancer	Controles	Valor de P
<i>H. pylori</i>	Positivo	46 (70%)	73 (54%)	0.03
	Negativo	20 (30%)	63 (46%)	
CagA	Positivo	58 (88%)	99 (73%)	0.02
	Negativo	8 (12%)	37 (27%)	

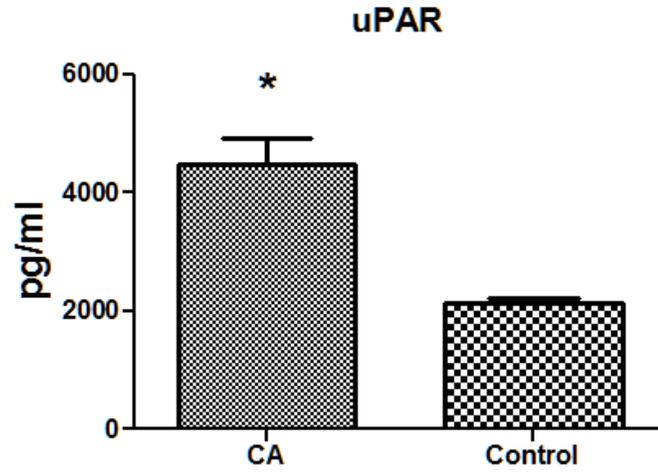
La prueba de chi cuadrado para medir la independencia fue realizada para determinar la asociación entre el cáncer vs. *H. pylori* y *cagA*.

La presencia de cáncer se encontró significativamente asociada a la de *H. pylori* (P=0.03) y *cagA* (P=0.02).

En el análisis de correlación usado para determinar la correlación de uPAR con *H. pylori* y *cagA*, se encontró que existe una correlación negativa débil (C = -0.01, P=0.44) con *H. pylori* y por otro lado, hubo una correlación positiva débil (C=0.01, P=0.44) entre uPAR y el factor de virulencia *cagA*.

GRÁFICA No. 10

Comparación de concentraciones de uPAR obtenidas en casos y controles

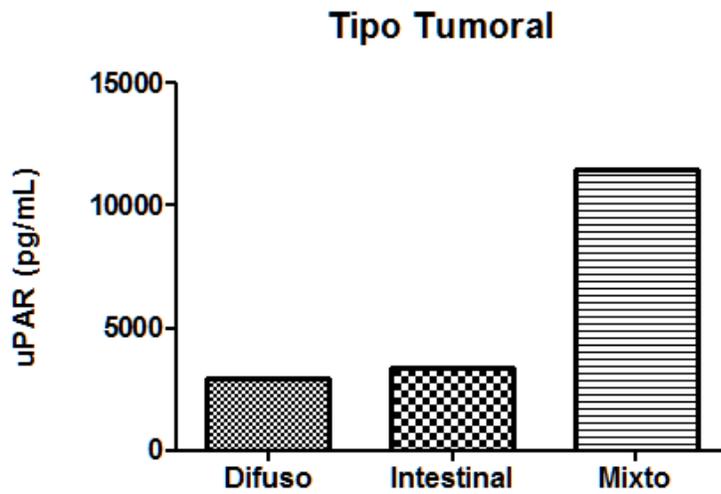


Fuente: base de datos del proyecto "Valor diagnóstico de las proteínas uPAR en sangre para el cáncer gástrico en Guatemala"

Niveles significativamente más elevados de uPAR en el grupo con cáncer

GRÁFICA No. 11

Comparación de concentraciones de uPAR obtenidas por tipo tumoral

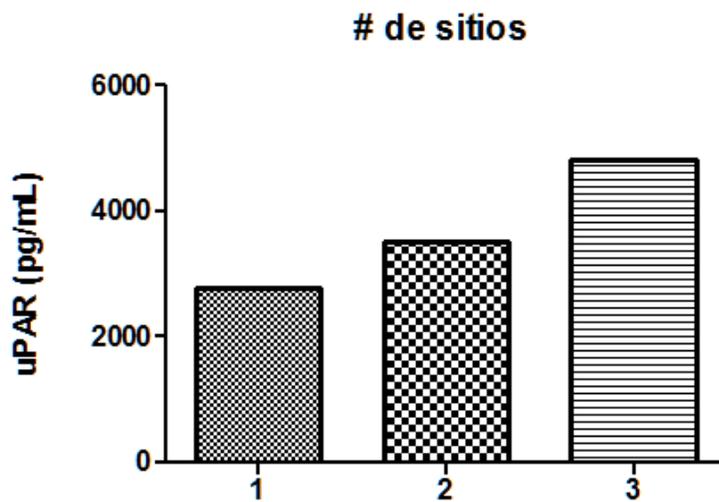


Fuente: base de datos del proyecto “Valor diagnóstico de las proteínas uPAR en sangre para el cáncer gástrico en Guatemala”

No hubo correlación significativa de los niveles de uPAR con el tipo tumoral en las pruebas estadísticas, ya que los casos de tipo mixto fueron solamente 2, con lo cual no puede hacerse comparación estadística.

GRÁFICA No. 12

Comparación de concentraciones de uPAR obtenidas por número de sitios anatómicos abarcados por la neoplasia

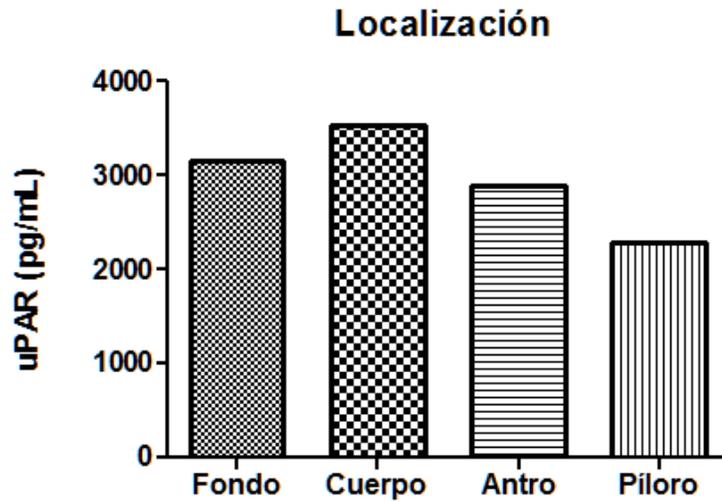


Fuente: base de datos del proyecto “Valor diagnóstico de las proteínas uPAR en sangre para el cáncer gástrico en Guatemala”

No hubo correlación significativa con el número de sitios en las pruebas estadísticas, aunque se ve una tendencia de los niveles de uPAR a aumentar conforme a un número mayor de sitios anatómicos abarcados por parte de la neoplasia.

GRÁFICA No. 13

Comparación de concentraciones de uPAR obtenidas por localización anatómica del cáncer gástrico

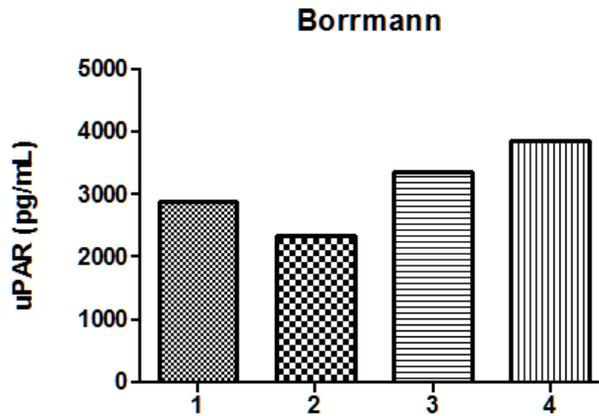


Fuente: base de datos del proyecto “Valor diagnóstico de las proteínas uPAR en sangre para el cáncer gástrico en Guatemala”

No hubo correlación significativa de la localización con los niveles de uPAR.

GRÁFICA No. 14

Comparación de concentraciones de uPAR obtenidas por localización anatómica del cáncer gástrico

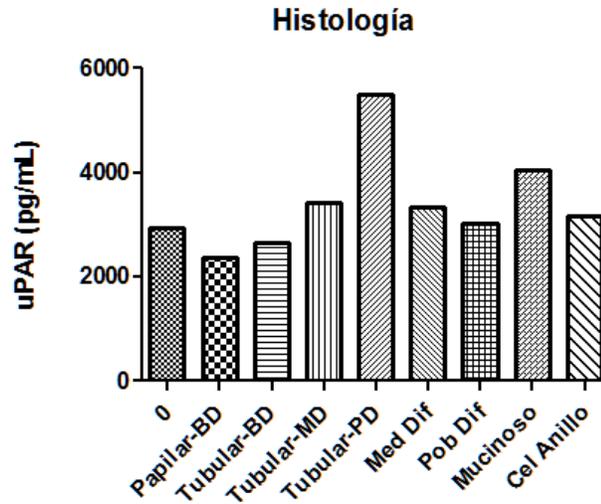


Fuente: base de datos del proyecto “Valor diagnóstico de las proteínas uPAR en sangre para el cáncer gástrico en Guatemala”

No hubo correlación significativa con la clasificación de Borrmann. Sin embargo, es posible que sea debido al número de muestras (8 con tipo 1, 4 con tipo 2, 49 con tipo 3, 6 con tipo 4), dado que hay un desbalance en el número de casos para cada clasificación.

GRÁFICA No. 15

Comparación de concentraciones de uPAR obtenidas por histología

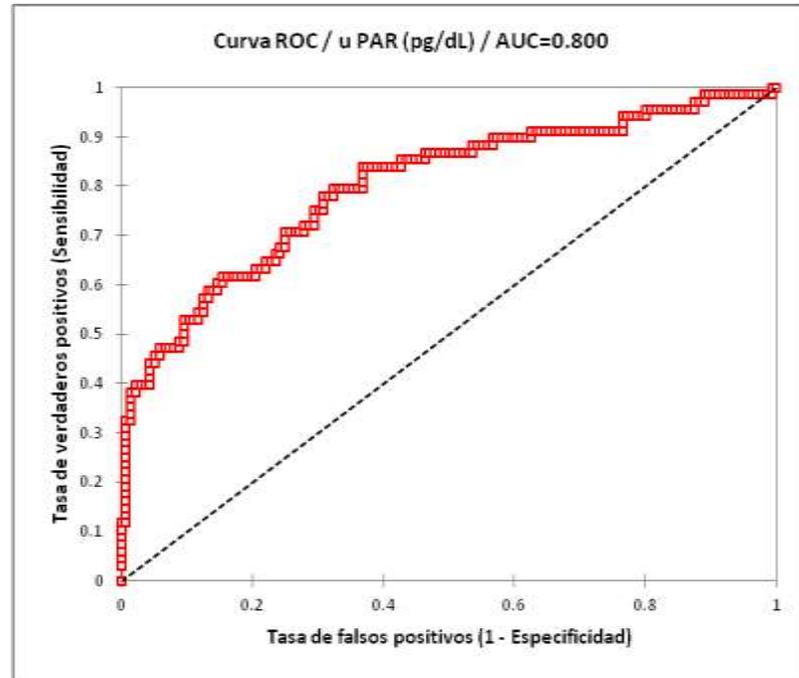


Fuente: base de datos del proyecto “Valor diagnóstico de las proteínas uPAR en sangre para el cáncer gástrico en Guatemala”

No hubo correlación significativa de las cuantificaciones de uPAR con la histología del adenocarcinoma gástrico.

GRÁFICA No. 16

Curva ROC para las cuantificaciones de uPAR en neoplasia gástrica

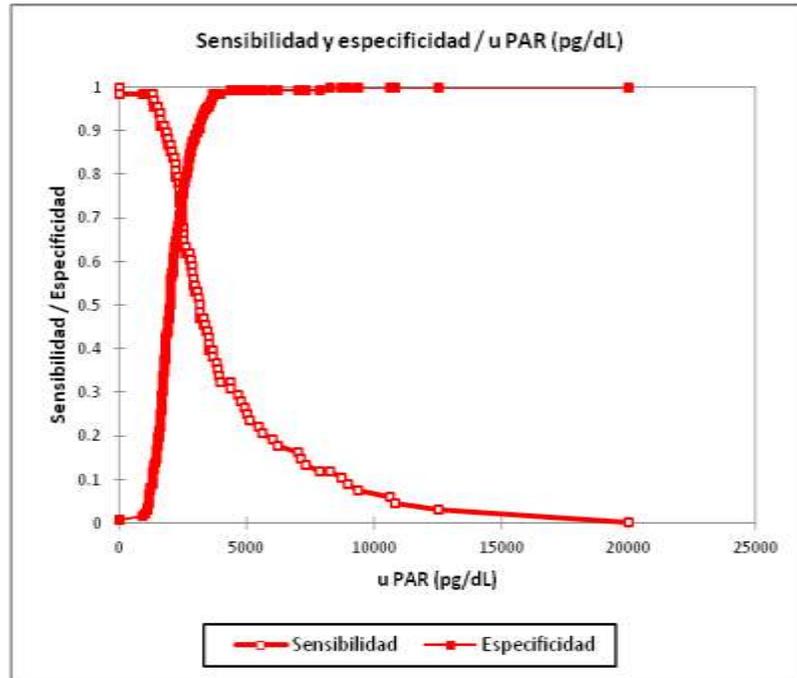


Fuente: base de datos del proyecto “Valor diagnóstico de las proteínas uPAR en sangre para el cáncer gástrico en Guatemala”

En este caso, el AUC (área bajo la curva, representado por la línea punteada del gráfico) de la cuantificación de las proteínas uPAR fue 0,80 y su intervalo de confianza de 95% (IC 95%) fue 0.732 - 0.867. De tal forma que si se considera que un AUC = 0,80 se encuentra a medio camino entre la no-discriminación (AUC = 0,50) y la discriminación perfecta (AUC = 1,00), el AUC de las cuantificaciones de uPAR se encuentra más cercana a la perfección que a la no-discriminación, por lo tanto, resulta razonable plantear dicha determinación es un test diagnóstico con una capacidad aceptable de discriminar pacientes con y sin cáncer gástrico.

GRÁFICA No. 17

Curva de sensibilidad y especificidad para las cuantificaciones de uPAR en neoplasia gástrica



Fuente: base de datos del proyecto “Valor diagnóstico de las proteínas uPAR en sangre para el cáncer gástrico en Guatemala”

7.2 Matriz de Resultados

En esta matriz presente los productos, resultados o hallazgos planteados en la propuesta de investigación y los resultados concretos u obtenidos en la investigación.

Objetivo Específico	Resultado Esperado	Resultado Obtenido
Determinar la concentración de proteína uPAR intacto y sus productos de rompimiento individual o colectivamente en el plasma de la población en estudio.	Concentración de proteína uPAR, medida en el plasma, para casos y controles.	Cuantificaciones de la proteína uPAR, medida en el plasma, para casos y controles.
Establecer si existen diferencias en la concentración en plasma de las diversas formas de proteína uPAR solubles entre pacientes con cáncer gástrico y controles saludables.	Diferenciación en las cuantificaciones de proteína uPAR entre ambos grupos participantes.	Diferencia significativa entre las cuantificaciones de proteína uPAR realizadas a ambos grupos (casos y controles) participantes.
Establecer si la concentración de las diferentes formas de proteína uPAR están asociadas a la infección con cepas de <i>H. pylori</i> positivas para CagA.	Evaluación de las diferencias en concentración de las proteínas uPAR entre los grupos separados según sus resultados de serología para <i>H. pylori</i>	No hubo asociación significativa entre la cuantificación de las proteína uPAR y la infección con cepas de <i>H. pylori</i> positivas para CagA.

7.3 Impacto esperado

Consiste en disponer de metodología para la medición de marcadores en sangre, siendo un método no invasivo y de bajo costo para evaluar el riesgo de desarrollar cáncer gástrico.

8. Análisis y discusión de resultados

Durante la ejecución del proyecto se recolectó información concerniente a la caracterización de los pacientes con adenocarcinoma gástrico a través de la toma de muestras y el llenado de boletas de recolección.

Al conocer las características particulares de los sujetos que se ven mayormente afectados por la neoplasia gástrica, podemos iniciar la identificación de posibles factores de riesgo que en un futuro nos ayuden a implementar medidas de prevención específica.

En la Tabla No. 1 se muestran las cifras de los casos y controles por sexo, de tal manera que se puede ver que el mayor número de los casos es de sexo masculino (56%) siendo el sexo más afectado.

En cuanto a los centros hospitalarios visitados para la recolección y toma de las muestras, vemos en la Tabla No. 2 que 97 participantes (47% del total, 57% de los casos y 43% de los controles) fueron captados en el Instituto de Cancerología, 64 participantes (31% del total, 41% de los casos y 26% de los controles) en el Hospital Roosevelt, 42 participantes (21% del total y 31% de los controles) en el Centro de Investigaciones Biomédicas y 1 participante (0.5% del total y 1.4% de los casos) en la Clínica Gastro-Centro.

Así también la Gráfica No. 1 muestra el porcentaje por número de sitios anatómicos abarcados por la neoplasia, siendo el 63% correspondiente a un único sitio tomado, 31% a dos sitios y un 6% de tres sitios. De tal manera que en la Gráfica No. 2 se muestran las frecuencias de sitios anatómicos tomados con respecto al número de localizaciones abarcadas por la neoplasia.

En la Gráfica No. 3 se muestran los porcentajes de presentación de macroscópica del cáncer gástrico según la clasificación de Borrmann, siendo el mayor porcentaje (72%) correspondiente al tipo 3, seguido del 12% de tipo 1, 10% de tipo 4 y un 6% de tipo 2.

En la Gráfica No. 4 se presentan los datos correspondientes a la clasificación tumoral según Lauren, evidenciándose que el 54% de los adenocarcinomas de estómago se clasifican como intestinal, el 43% de tipo difuso, el 3% de tipo mixto (intestinal y difuso). Asimismo en la Gráfica No. 5 se muestra la diferenciación por sexo de los tipos tumorales según Lauren, de tal manera que se observa que el número de casos en el tipo difuso e intestinal fue mayor en el sexo masculino, sin diferencias entre ambos sexos en el tipo mixto.

La Gráfica No. 6 muestra los porcentajes de presentación de cada tipo histológico del cáncer gástrico, siendo así que el mayor porcentaje (39%) corresponde a los adenocarcinomas pobremente diferenciados, seguidos del 22% de medianamente diferenciados y 18% de células en anillo de sello.

En cuanto a la distribución por edad y sexo presentada en la Tabla No. 3, es posible notar que las pacientes de sexo femenino presentan una frecuencia de edad menor a la

del sexo masculino (49 años en mujeres frente a 63 años en varones), siendo más jóvenes al momento de ser diagnosticadas con cáncer gástrico, de igual forma se evidencia un promedio de edad menor al de los varones.

Se ha reportado en la literatura el papel tan importante que juega el patrón de distribución geográfica de los sujetos con cáncer gástrico, de tal forma que es importante destacar los hallazgos encontrados hasta el momento en la presente investigación, ya que al identificar las zonas con mayor número de casos se pueden dirigir acciones para profundizar sobre factores particulares de dichos grupos poblacionales que se encuentran en mayor riesgo de desarrollar la patología. En la Tabla No. 4 y en el mapa presentado en la Imagen No. 1 se muestran los datos de las regiones guatemaltecas con mayores porcentajes de casos de adenocarcinoma gástrico, siendo la región Sur-Oriente (comprende los departamentos de Santa Rosa, Jalapa y Jutiapa) la más afectada con el 27% de los casos, a continuación se encuentra la región metropolitana (departamento de Guatemala) con 18% y luego las regiones Central (departamentos de Escuintla, Chimaltenango y Sacatepequez) y Sur-Occidente (Sololá, Totonicapán, Quetzaltenango, Suchitepequez, Retalhuleu y San Marcos) con 16% cada una, siendo la región Petén (departamento de Petén) la menos afectada.

De acuerdo a la caracterización de los pacientes con cáncer de estómago, se puede observar en la Gráfica No. 7 que la mayoría de los sujetos se identifica con la etnia ladina (71%) y que el 28% se identifica como indígena, encontrándose además el 1% de garífunas y no existiendo ningún sujeto perteneciente a la etnia xinca.

En cuanto a los resultados obtenidos de las pruebas serológicas realizadas a ambos grupos participantes, se evidencia en la Tabla No. 5 la presentación de frecuencias de H. pylori y cagA para los casos y controles, de tal manera que puede notarse que el 54.9% del total de participantes son positivos serológicamente para cepas virulentas de H. pylori, 3.9% presenta positividad para H. pylori no virulentas (cagA-), 23% muestra H. pylori - cagA+ y 18% corresponde a los participantes negativos para H. pylori con factor de virulencia.

Asimismo en la Gráfica No. 8 se muestra que el 68% de los casos presentó IgG positiva para H. pylori cagA+ (cepas virulentas), 1% fue positivo para H. pylori cagA-, 21% presenta H. pylori negativo y cagA positivo lo cual se puede explicar por una presencia mayor en el tiempo de los anticuerpos específicos para cagA con respecto a los IgG de H. pylori, sin embargo se presenta que el únicamente el 10% de los casos son verdaderos negativos frente a H. pylori y su factor de virulencia cagA. Al comparar dichos resultados con la Gráfica No. 9 que corresponde a los porcentajes presentados en el grupo control, se puede ver que el 49% de los mismos presenta positividad para H. pylori virulentas y el 22% corresponde a los verdaderos negativos.

Continuando con los resultados de las pruebas de laboratorio, la Tabla No. 6 y la Tabla No. 7 muestra los resultados de la estadística descriptiva para cada grupo, casos y controles respectivamente; y en la Tabla No. 8 se muestra la información utilizada para realizar la comparación de dos medias independientes con lo cual se concluye que al obtener un Valor-P de 0.000, existe diferencia significativa en las medias de los casos y los controles con la variable uPAR (pg/dL). Asimismo en la Gráfica No. 8 se muestra la comparación de las concentraciones de uPAR obtenidas para cada grupo participante.

En la Tabla No. 9 se resume la prueba de chi cuadrado para medir la independencia fue realizada para determinar la asociación entre el cáncer vs. *H. pylori* y *cagA*.

La presencia de cáncer se encontró significativamente asociada a la de *H. pylori* (P=0.03) y *cagA* (P=0.02).

En el análisis de correlación usado para determinar la correlación de uPAR con *H. pylori* y *cagA*, se encontró que existe una correlación negativa débil (C = -0.01, P=0.44) con *H. pylori* y por otro lado, hubo una correlación positiva débil (C=0.01, P=0.44) entre uPAR y el factor de virulencia *cagA*.

En las pruebas estadísticas correspondientes a modelos de regresión logística, los niveles de uPAR no fueron influenciados significativamente por la edad, el número de sitios anatómicos, la localización del cáncer, la clasificación Borrmann o el tipo de tumor, dichos datos se representan en las Gráficas No. 10, 11, 12, 13, 14 y 15.

La Gráfica No. 16 corresponde a una curva ROC que constituye un método estadístico para determinar la exactitud diagnóstica de tests que utilizan escalas continuas, siendo utilizadas con propósitos específicos como determinar el punto de corte en el que se alcanza la sensibilidad y especificidad más alta y evaluar la capacidad discriminativa del test diagnóstico, es decir, su capacidad de diferenciar sujetos sanos versus enfermos. En este caso, el AUC (área bajo la curva, representado por la línea punteada del gráfico) de la cuantificación de las proteínas uPAR fue 0,80 y su intervalo de confianza de 95% (IC 95%) fue 0.732 - 0.867. De tal forma que si se considera que un AUC = 0,80 se encuentra a medio camino entre la no-discriminación (AUC = 0,50) y la discriminación perfecta (AUC = 1,00), el AUC de las cuantificaciones de uPAR se encuentra más cercana a la perfección que a la no-discriminación, por lo tanto, resulta razonable plantear dicha determinación es un test diagnóstico con una capacidad aceptable de discriminar pacientes con y sin cáncer gástrico.

La Gráfica No. 17 muestra la curva de sensibilidad y especificidad para las cuantificaciones de uPAR en neoplasia gástrica.

9. Conclusiones

- El sexo masculino presentó un mayor número de casos de adenocarcinoma gástrico (56%).
- En cuanto a la clasificación por tipo tumoral de los casos, el 54% de los adenocarcinomas de estómago se clasifican como intestinal, el 43% de tipo difuso, el 3% de tipo mixto (intestinal y difuso), asimismo se documentó que el número de casos en el tipo difuso e intestinal fue mayor en el sexo masculino, sin diferencias entre ambos sexos en el tipo mixto.
- En cuanto a la distribución por edad y sexo de los casos de cáncer gástrico, las pacientes de sexo femenino presentan una frecuencia de edad menor a la del sexo masculino (49 años en mujeres frente a 63 años en varones), siendo más jóvenes al momento de ser diagnosticadas con cáncer gástrico.
- La presentación de frecuencias de *H. pylori* y *cagA* para los casos y controles, evidencia que la prevalencia de participantes con serología positiva para cepas de *H. pylori* virulentas (factor *cagA*+) asciende a 54.9% y 18% corresponde a los participantes verdaderos negativos para *H. pylori cagA*-.
- Existe diferencia significativa en las medias de los casos y los controles con la variable uPAR (pg/dL).
- Los niveles de uPAR no fueron influenciados significativamente por la edad, el número de sitios anatómicos, la localización del cáncer, la clasificación Borrmann o el tipo de tumor.
- La presencia de cáncer se encontró significativamente asociada a la de *H. pylori* (P=0.03) y *cagA* (P=0.02).
- Existe una correlación negativa débil (C = -0.01, P=0.44) de uPAR con *H. pylori* y una correlación positiva débil (C=0.01, P=0.44) entre uPAR y el factor de virulencia *cagA*.

- La curva ROC muestra que el AUC de las cuantificaciones de uPAR se encuentra más cercana a la perfección que a la no-discriminación, por lo tanto, resulta razonable plantear dicha determinación es un test diagnóstico con una capacidad aceptable de discriminar pacientes con y sin cáncer gástrico.

10. Referencias

- Alpizar-Alpizar, W., Boye-Schnack, N., Sierra, R., Illemann, M., Ramírez, J.A., Arias, A. ... Laerum, O.D. (2009). Urokinase plasminogen activator receptor is expressed in invasive cells in gastric carcinomas from high- and low-risk countries. *International Journal of Cancer*, 126, 405-415.
- American Cancer Society. (2010). Stomach Cancer. American cancer society.
- Arana-Reyes, J.C. y Corona-Bautista, A. Cáncer gástrico (monografía), 1-7.
- Baryshnikova, N. (2009). Problemas actuales en el diagnóstico de helicobacteriosis. *Gastroenterología Clínica & Experimental*, 50-56.
- Cañas, M. M. (2009). Polimorfismo genético de interleuquina-1: Asociación con cáncer gástrico en la población de alto riesgo del Centroccidente de Venezuela. *Revista médica de Chile*, 137(1), 63-70.
- Correa, P. (2011). Cáncer gástrico: una enfermedad infecciosa. *Revista colombiana de cirugía*, 26, 111-117.
- Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, Parkin DM, Forman D, Bray, F. GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 11 [Internet]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2013. Disponible en: <http://globocan.iarc.fr>.
- Herrera-Goepfert, R. Z. (2004). Asociación del alelo HLA-DQB1*0501 del complejo mayor de histocompatibilidad con cáncer gástrico en México. *Gaceta médica de México*, 140(3), 299-303.
- Instituto de investigaciones en Salud*. Obtenido de <http://www.inisa.ucr.ac.cr/noticias/207-el-inisa-fortalece-investigacion-conjunta-con-dinamarca-para-prevenir-cancer-gastrico.html>
- International Agency for Research on Cancer, (2012). The Globocan Project. Obtenido de http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_population.aspx
- Intramed. (2008). *Cáncer gástrico* (pp.1-23). Libros virtuales Intramed
- Nagini, S. (2012). Carcinoma of the stomach: A review of epidemiology, pathogenesis, molecular genetics and chemoprevention. *World J Gastrointest Oncol*, 4(7),156-169.

- Pérez, E. Q. (2011). Tumores gástricos. En Tratamiento de las enfermedades gastroenterológicas. España: Elsevier.
- Portilla, L. G. (23 de Agosto de 2011). Inisa Universidad de Costa Rica. Obtenido de www.inisa.ucr.ac.cr/
- Posada-Tánchez, L., Robles-Girón, A.N. y Orozco-Méndez, M.P. (2010). *Detección de anticuerpos igG contra Helicobacter pylori en personas a riesgo* (tesis de pregrado). Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.
- Registro del Cáncer del INCAN. (2008). *Registro Hospitalario Año 2008*. Guatemala: Autor
- Registro del Cáncer del INCAN. (2012). *Registro Hospitalario Año 2012*. Guatemala: Autor
- Rodas-Morales, C. (2002). *Cáncer gástrico* (tesis de pregrado). Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.
- Serrano, A., Hernández, M. C., Salazar, J.D.G. y Herrera, L.A. (2009). *Helicobacter pylori y Cáncer Gástrico. Cancerología, 4*, 193-204.
- Une, C. Validación de pruebas serológicas para detectar la infección por *Helicobacter pylori* en Costa Rica. Universidad de Costa Rica. Proyecto FV-046-07. pp. 1-5

11. Apéndice

Fotografías del trabajo de campo de la investigación



Fotografía 1: Rotulación de los tubos de ensayo utilizados con cada participante



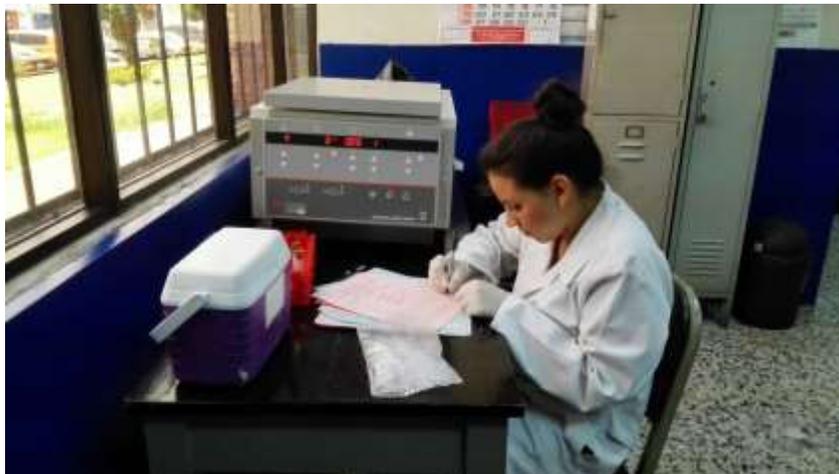
Fotografía 2: Obtención de muestra sanguínea de cada participante con colaboración de médico anesestesiólogo del INCAN.



Fotografía 3: Balanceo de los tubos de ensayo previo a su centrifugación.



Fotografía 4: Centrifugación en frío de las muestras sanguíneas de los participantes del estudio, para la separación posterior de suero y plasma.



Fotografía 5: Rotulación de los criotubos utilizados en el almacenaje del suero y plasma.



Fotografía 6: Pipeteo para separación del suero y plasma obtenidos de la muestra de cada participante.



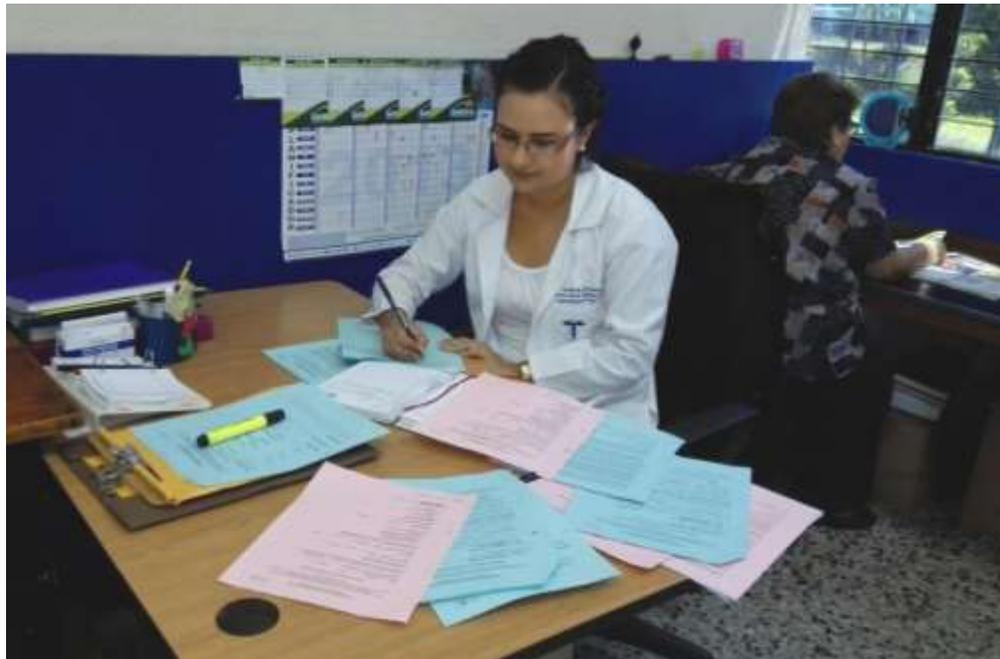
Fotografía 7: Pipeteo para separación del suero y plasma obtenidos de la muestra de cada participante.



Fotografía 8: Almacenaje de las muestras que permanecerán congeladas a -80°C para su conservación hasta el momento del procesamiento.



Fotografía 9: Muestras congeladas a -80°C para su conservación hasta el momento del procesamiento.



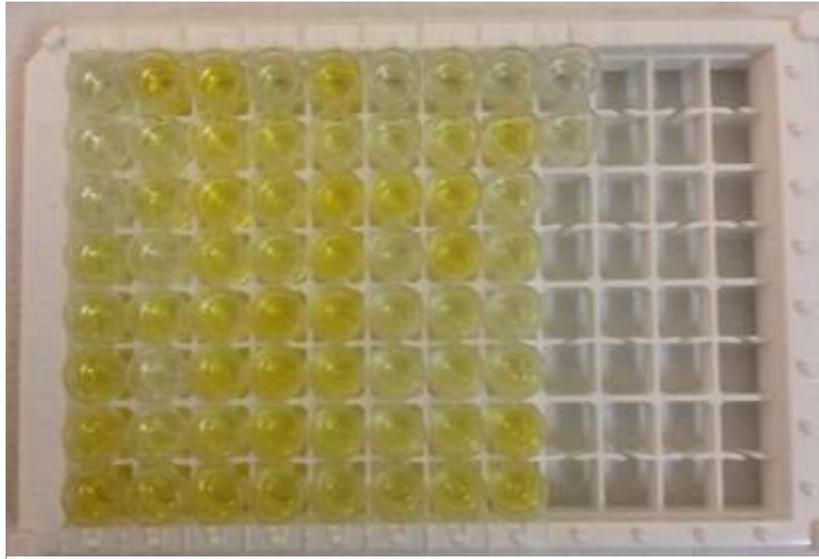
Fotografía 10: Revisión y archivo de los consentimientos informados, hojas de información general, registro de laboratorio y hoja de patología de los participantes del estudio.



Fotografía 11: Realización de serología para *H. pylori* por método de ELISA a todos los participantes del estudio.



Fotografía 12: Realización de serología para *H. pylori* por método de ELISA a todos los participantes del estudio.



Fotografía 13: Placa de ELISA para determinación de anticuerpos IgG contra *H. pylori*.



Fotografía 14: Equipo de investigación. Centro de Investigaciones Biomédicas, Facultad de Ciencias Médicas.

12. Actividades de gestión, vinculación y divulgación

Actividades realizadas	Productos obtenidos	Responsables	Mes
Gestión			
Solicitud de información sobre el proceso de autorización del proyecto para su realización dentro de las instalaciones del Instituto de Cancerología - INCAN-.	Evaluación interna del proyecto de investigación por parte del Departamento de Investigación y Docencia del Instituto de Cancerología.	Coordinadora	Febrero
Entrega de carta de solicitud de autorización de la investigación en INCAN, así como adjunto de las cartas de avales requeridas por la institución y de copia del proyecto.			
Solicitud de información sobre el proceso de autorización del proyecto para su realización dentro de las instalaciones del Hospital Roosevelt.	Autorización para realización de la investigación y toma de muestras dentro de las instalaciones del Hospital Roosevelt por parte del Departamento de Docencia e Investigación y Comité de ética en la Investigación del Hospital Roosevelt.	Coordinadora	Febrero
Entrega de carta de invitación de participación en la investigación			

al Jefe de Departamento de Medicina Interna y Jefe de Unidad de Gastroenterología, así como adjunto de avales y copia del proyecto.			
Solicitud de información sobre el proceso de autorización del proyecto para su realización dentro de las instalaciones del Hospital General San Juan de Dios (HGSJDD).	Evaluación interna del proyecto por parte del Comité de investigación y ética del Hospital.	Coordinadora	Marzo
Entrega de carta de solicitud de autorización de la investigación en HGSJDD, así como adjunto de las cartas de avales requeridas por la institución y de copia del proyecto.			
Seguimiento de proceso de autorización para realización de la investigación y toma de muestras dentro de las instalaciones del Instituto de Cancerología (INCAN).	Carta de autorización de la investigación dentro de las instalaciones del INCAN.	Coordinadora	Marzo
Elaboración de carta de solicitud de acceso a informes de patología de los participantes	Carta de autorización emitida por Jefe de Laboratorios Clínicos y Área	Coordinadora	Marzo Abril

del estudio en el Hospital Roosevelt.	de Patología.		
Reunión con profesional representante de clínica particular de Gastroenterología, para colaboración de la misma en la captación de participantes en el proyecto.	Carta de aceptación de colaboración de clínica particular en el enrolamiento de pacientes con diagnóstico de cáncer gástrico.	Coordinadora	Mayo
Seguimiento de proceso de autorización para realización de la investigación y toma de muestras dentro de las instalaciones del Hospital General San Juan de Dios (HGSJDD).	Carta de aprobación del protocolo de investigación emitido por la Coordinadora del comité de investigación del HGSJDD.	Coordinadora	Abril Mayo Junio
Asiento de notas que deban efectuarse en bitácora para mantener un registro de las actividades del proyecto de investigación. Así como llevar un registro de avance del mismo.	Bitácora con registro de actividades.	Coordinadora	Febrero Marzo Abril Mayo Junio Julio Agosto
Cotización de precios de venta de los insumos que serán requeridos para la investigación.	Cotizaciones y solicitudes de compra.	Coordinadora	Febrero Marzo Abril Mayo Junio Julio

			Agosto
Elaboración de un archivo en donde constan las cartas y solicitudes de autorización entregadas a los hospitales.	Archivo de documentación	Coordinadora	Febrero Marzo Abril Mayo Junio Julio Agosto
Elaboración de un archivo en donde constan los consentimientos informados, hojas de información general, registro de laboratorio y hoja de patología de los participantes del estudio.	Archivo de documentación	Coordinadora Auxiliar de Investigación II	Febrero Marzo Abril Mayo Junio Julio Agosto
Vinculación			
Participación en conferencias informativas sobre cáncer impartidas por parte del Instituto de Cancerología - INCAN-	Aprendizaje sobre patologías de interés que se encuentran relacionados con el tema que desarrolla el proyecto.	Coordinadora	Febrero
Presentación del proyecto de investigación en la Unidad de Gastroenterología del Hospital Roosevelt.	Colaboración y apoyo de los Jefes de la Unidad con el proyecto.	Coordinadora	Marzo

Asistencia a charla sobre aspectos histopatológicos del cáncer gástrico, dada por Dr. Orlando Rodas, encargado del Posgrado de Patología del Hospital Roosevelt.	Adquisición de conocimientos requeridos para el desarrollo del proyecto de investigación.	Coordinadora	Abril
Comunicación con autoridades del Instituto de Investigaciones en Salud de la Universidad de Costa Rica para coordinar programa de actividades a realizar durante la pasantía programada según anteproyecto presentado.	Programa de actividades de pasantía	Coordinadora Directora de área Curricular de Investigación de la Fac. de CCMM	Mayo
Participación en conferencias informativas sobre patología oncológica	Aprendizaje sobre cáncer gástrico y otras patologías relacionadas con el tema que desarrolla el proyecto.	Coordinadora	Julio
Presentación de datos preliminares a Miembros de la Red Temática de Interés en Cáncer Gástrico y representante de la Escuela de Medicina del Hospital de Nueva York	Consolidación de colaboración para el proyecto	Coordinadora Investigadora asociada	Julio

Comunicación con autoridades del Instituto de Investigaciones en Salud de la Universidad de Costa Rica y el Instituto Finsen para coordinar envío de las muestras y su posterior procesamiento.	Logística de envío	Coordinadora Directora de área Curricular de Investigación de la Fac. de CCMM	Junio Julio Agosto
Establecimiento de nuevos vínculos de colaboración con la Universidad de Guadalajara para posible procesamiento de muestras.	Nuevas colaboraciones	Coordinadora Directora de área Curricular de Investigación de la Fac. de CCMM	Octubre
Asistencia al I Simposio de Investigación del Área Curricular de Investigación	Adquisición de conocimientos con gran utilidad para el desarrollo de los procesos científicos.	Coordinadora	Octubre
Participación en los seminarios de investigación realizados por parte del Área Curricular de Investigación de la Fac. de CCMM	Adquisición de conocimientos sobre la realización de proyectos de investigación científica en el país.	Coordinadora Directora de área Curricular de Investigación de la Fac. de CCMM	Octubre Noviembre
Establecimiento de nuevos vínculos de colaboración con la Universidad de Louisville (a través del Dr. Gabino Fernández-Bostrán) para procesamiento de muestras en sus laboratorios.	Nuevas colaboraciones	Coordinadora Directora de área Curricular de Investigación de la Fac. de CCMM	Noviembre Diciembre Enero Febrero Marzo

LISTADO DE TODOS LOS INTEGRANTES DEL EQUIPO DE INVESTIGACIÓN

Contratados por contraparte y colaboradores	
--	--

CONTRATADOS POR LA DIRECCIÓN GENERAL DE INVESTIGACIÓN

Nombre	Categoría	Registro de Personal	Pago	
			SI	NO
Irmgardt Alicia María Wellmann Castellanos	Titular I	20150178	x	

Nombre	Firma
Irmgardt Alicia María Wellmann Castellanos	

Dra. Irmgardt Alicia María Wellmann Castellanos
Coordinador(a) proyecto de investigación

Dra. Hilda Valencia de Abril
Coordinador(a) Programa Universitario de Investigación Interdisciplinaria en Salud

Vo.Bo. Ing. Agr. MARN. Julio Rufino Salazar
Coordinador General de Programas.