

Universidad Católica de Santa María
Facultad de Medicina Humana
Escuela Profesional de Medicina Humana



**DIFERENCIAS EN LAS MUTACIONES DE LOS GENES P53 Y ARID1A
EN PACIENTES ADULTOS CON ESTADIOS PRE NEOPLÁSICOS
GÁSTRICOS SEGÚN PELAYO CORREA**

Tesis presentada por la Bachiller:
Navarro Ochoa, Pamela Kelly
para optar el Título Profesional de:
Médico Cirujana

Asesor:

Dr. Bernabé Ortiz, Julio César

Arequipa – Perú

2020



Universidad Católica
de Santa María

87

AREQUIPA-PERÚ

(51 54) 382038 <http://www.ucsm.edu.pe> [facebook.com/ucsm.edu.pe/](https://www.facebook.com/ucsm.edu.pe/)

INFORME DICTAMEN BORRADOR DE TESIS
DECRETO N° 072 - FMH-2020

Visto el Borrador de Tesis titulado:

“DIFERENCIAS EN LAS MUTACIONES DE LOS GENES P53 Y ARID1A EN PACIENTES ADULTOS CON ESTADIOS PRE NEOPLÁSICOS GÁSTRICOS SEGÚN Pelayo Correa”

Presentado por el (la) Sr(ta):

NAVARRO OCHOA, PAMELA KELLY

Nuestro dictamen es:

FAVORABLE

OBSERVACIONES:

Arequipa, **13 MARZO 2020**

.....
DR. MAURICIO POSTIGO MCDOWALL

.....
DR. MANUEL MEDINA VÁSQUEZ

HOSPITAL REGIONAL HONORIO DELGADO
Ministerio de Salud

.....
DR. WALKER JOVE OBLITAS
JEFE SERVICIO DE GASTROENTEROLOGIA
C.M.P. 35249, R.N.E. 14145

DR. WALKER JOVE OBLITAS

EPÍGRAFE

Como el camino terreno está sembrado de espinas, Dios ha dado al hombre tres dones: la sonrisa, el sueño y la esperanza.

En las tinieblas la imaginación trabaja más activamente que en plena luz.

Immanuel Kant



DEDICATORIA

A Salvador y Dora, mis padres, que me brindan su apoyo y amor incondicional diariamente, que gracias a sus consejos y palabras de aliento me han ayudado para crecer como persona y seguir adelante en este camino llamado vida.

A Raquel y Joseph, mis hermanos mayores, quienes tanto me estimularon y enseñaron a luchar y no rendirme para así lograr lo que sólo con el esfuerzo se alcanza.

A amigos que me regaló esta carrera durante tantos largos años, que sin esperar nada a cambio compartieron su conocimiento, alegrías y tristezas, mas siempre perseverando juntos en esta carrera.

Con amor, para ustedes...

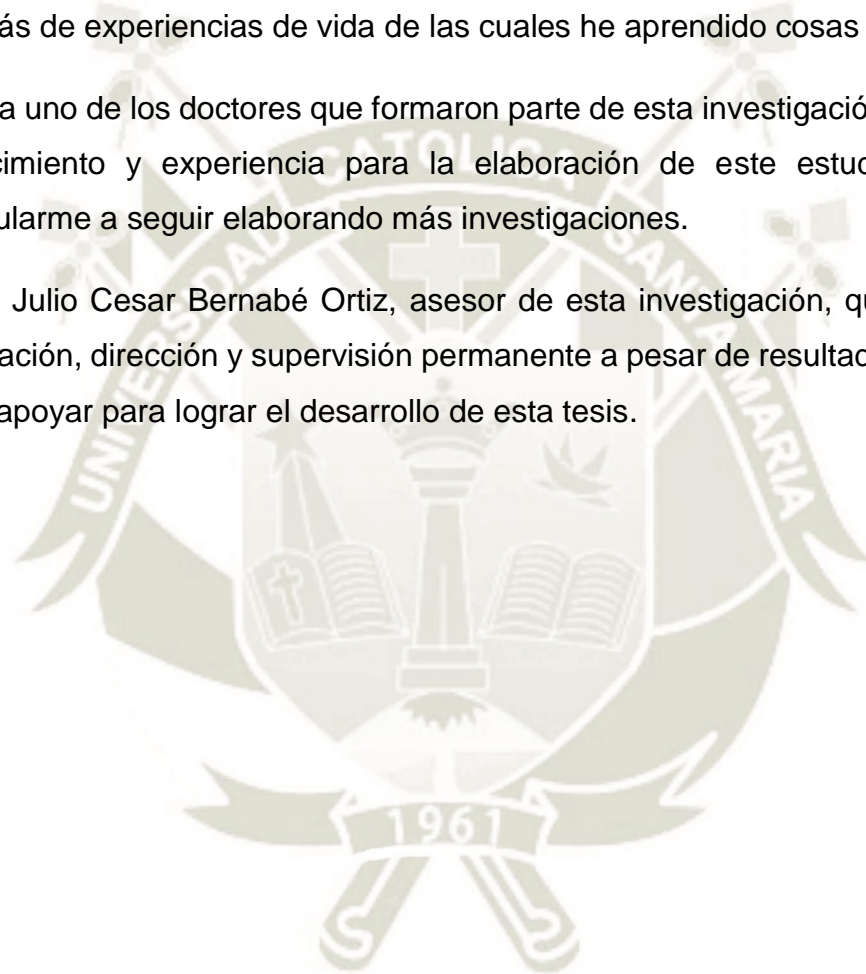
AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Católica de Santa María y Facultad de Medicina Humana, por brindarme los recursos necesarios para poder formarme como Médico Cirujano.

A todo el personal del Hospital de Aplao por ser parte de mi último año de formación académica, el internado, la etapa que me enseñó lo que esta carrera significa, además de experiencias de vida de las cuales he aprendido cosas invaluable.

A cada uno de los doctores que formaron parte de esta investigación, brindando su conocimiento y experiencia para la elaboración de este estudio además de estimularme a seguir elaborando más investigaciones.

Al Dr. Julio Cesar Bernabé Ortiz, asesor de esta investigación, que gracias a su orientación, dirección y supervisión permanente a pesar de resultados inesperados supo apoyar para lograr el desarrollo de esta tesis.



RESUMEN

Fundamento: El cáncer de estómago es la 5^{ta} neoplasia más frecuente y el 3^{er} cáncer más mortal, depende en gran medida de la dieta y la infección por la bacteria *Helicobacter pylori*, además de la herencia y la genética. Se ha estudiado a nivel genético mutaciones claves en el desarrollo del cáncer gástrico. Se ha documentado la pérdida de función del gen ARID1A, factor en la remodelación de la cromatina, en las vías de carcinogénesis hacia cáncer gástrico así como mutaciones en el gen p53, supresor tumoral más inactivado frecuentemente en cánceres humanos hasta la fecha, en más del 60% de esta etiología. Actualmente existe controversia con respecto a la etapa en la cual ocurren estas alteraciones en el genoma dentro de la cascada precancerosa descrita por Correa. Ambos genes tendrían un valor como biomarcadores de carcinogénesis gástrica.

Objetivo: Establecer diferencias en las mutaciones de los genes P53 y ARID1A en pacientes adultos con estadios pre neoplásicos gástricos según Pelayo Correa.

Método: Estudio de cohortes de valoración transversal en muestras parafinadas de pacientes diagnosticados con gastritis crónica no atrófica, atrófica sin metaplasia, metaplásica y metaplásica con displasia en Arequipa 2020. Se recolectaron 10 muestras con diagnóstico histopatológico de gastritis crónica no atrófica, 10 muestras con gastritis crónica atrófica sin metaplasia, 10 muestras con diagnóstico histopatológico de gastritis crónica atrófica metaplásica y 10 con gastritis crónica atrófica metaplásica con displasia. Se evaluó la presencia de mutaciones en los genes p53 y ARID1A a través de secuenciación genética.

Resultados: La amplificación mediante la reacción en cadena de la polimerasa, usando primer diseñados, fue débil para su secuenciación.

Conclusiones: Optimizar los métodos usados dada la importancia de la extracción de ADN amplificable por PCR a partir de muestras fijadas en formalina y embebidas en parafina, simplificando el protocolo original y reduciendo la manipulación del material genético.

Palabras Clave: Gastritis, cáncer gástrico, mutaciones de genes p53 y ARID1A

ABSTRACT

Background: Stomach cancer is the 5th most frequent neoplasm and the 3rd deadliest cancer, it largely depends on diet and infection by *Helicobacter pylori* bacteria, in addition to heredity and genetics. Key mutations in the development of gastric cancer have been studied at the genetic level. Loss of function of the ARID1A gene, a factor in chromatin remodeling, has been documented in the carcinogenic pathways to gastric cancer, as well as mutations in the p53 gene, the most inactivated tumor suppressor to date, in more than 60% of this etiology. There is currently controversy regarding the stage at which these genome alterations occurred within the precancerous cascade described by Correa. Both genes would have value as biomarkers of gastric carcinogenesis.

Objective: To establish differences on P53 and ARID1A gene mutations in adult patients with gastric pre-neoplastic stages according to Pelayo Correa.

Method: Cross-sectional cohort study in paraffin-waxed samples from patients diagnosed with chronic non-atrophic, atrophic gastritis without metaplasia, metaplastic and metaplastic with dysplasia in Arequipa 2020. 10 samples were collected with histopathological diagnosis of chronic non-atrophic gastritis, 10 samples with gastritis Atrophic chronic without metaplasia, 10 samples with histopathological diagnosis of chronic metaplastic atrophic gastritis and 10 with chronic metaplastic atrophic gastritis with dysplasia. The presence of mutations in the p53 and ARID1A genes was evaluated through genetic sequencing.

Results: amplification by polymerase chain reaction, use of primary resolution, use of weak fuel for sequencing.

Conclusions: modifications to the methods used given the importance of the extraction of amplifiable DNA by PCR from samples fixed in formalin and embedded in paraffin, simplifying the original protocol and reducing the manipulation of genetic material.

Keywords: Gastritis, gastric cancer, p53 and ARID1A gene mutations

INTRODUCCIÓN

El cáncer gástrico sigue siendo un cáncer importante en todo el mundo y es responsable de más de 1, 000, 000 casos nuevos en 2018 y de un estimado de 783,000 muertes (lo que equivale a 1 de cada 12 muertes a nivel mundial), lo que lo convierte en el quinto cáncer diagnosticado con más frecuencia y la tercera causa principal de muerte por cáncer (44). Como muchas enfermedades, esta incidencia y mortalidad son muy variables según la región y depende en gran medida de la dieta y la infección por la bacteria *Helicobacter pylori*, además de la herencia y la genética. Se ha descrito que la variación internacional en la prevalencia de *H. pylori* se correlaciona razonablemente con la de la incidencia de cáncer de estómago. La creciente evidencia respalda la hipótesis de que aunque *H. Pylori* pueda ser el más relevante, no es el único factor predisponente que conduce a enfermedades gástricas, como la gastritis y posteriormente cáncer gástrico ya que la mitad de pacientes con gastritis son negativos para la infección de *H. Pylori* y la abundancia de esta bacteria disminuye en pacientes con cáncer (45).

Al explorar la base genética del cáncer gástrico que se desarrolla en la mucosa gástrica inflamada existen investigaciones de aberraciones genéticas. El gen p53, gen supresor de tumores inactivado más frecuentemente identificado en cánceres humanos hasta la fecha, mutado parecen ser factor clave en el desarrollo del cáncer gástrico (46). Otro gen ARID1A encargado de la remodelación de la cromatina, proceso que ha sido descrito también como uno de los mecanismos involucrados en la carcinogénesis de cáncer gástrico (47).

Clásicamente, el cáncer gástrico se puede dividir en dos subtipos histológicos: difuso o intestinal. Se cree que el tipo intestinal surge de una secuencia inflamación – atrofia – metaplasia – displasia – carcinoma Correa y col. Un sello distintivo de la metaplasia es un cambio en la identidad celular, y este proceso puede ser regulado por factores genéticos que inician y / o mantienen la identidad celular (14).

Actualmente existe controversia con respecto a la etapa en la cual ocurren estas alteraciones en el genoma dentro esta secuencia patológica (46).

El cáncer gástrico tiende a manifestarse con síntomas leves e inespecíficos en sus inicios, por lo cual rara vez son causa de consulta médica (34). El cáncer gástrico incipiente (aquella lesión que compromete la mucosa o submucosa) es asintomático el 80% de los casos, y en el 20% restante aparecen síntomas inespecíficos similares a un síndrome ulceroso y ocasionalmente náuseas, anorexia o saciedad precoz (31). Síntomas más alarmantes como una hemorragia digestiva alta o pérdida de peso significativa se presenta en menos del 2% de los casos precoces

Este tipo de sintomatología ha determinado que la mayoría de los casos de cáncer gástrico en nuestro país los diagnósticos se realicen en etapas avanzadas de la enfermedad, y el cáncer gástrico incipiente sólo sea detectado en alrededor de un 10% del total.

En la escala precancerosa según Correa la inflamación crónica juega un papel importante en el mecanismo de los cánceres gastrointestinales (14).

Las mutaciones de p53 detectadas en la gastritis han sido documentadas por Stemmermann et al y Kodama et al mientras que los estudios de Zheng y YouYoung, Shiao et al y Ochiai et al muestran alteraciones de p53 solo en la metaplasia intestinal (46). Romitti et al, Brito et al y Joypaul et al afirman que las mutaciones de p53 son eventos tardíos en el cáncer gástrico. Sin embargo, se han detectado alteraciones de p53 en estos estudios utilizando una variedad de métodos, como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), PCR, secuenciación directa e inmunohistoquímica. Por lo tanto, parece que la frecuencia y la etapa en que se detectan las alteraciones de p53 pueden depender de los métodos utilizados para detectarlas (46).

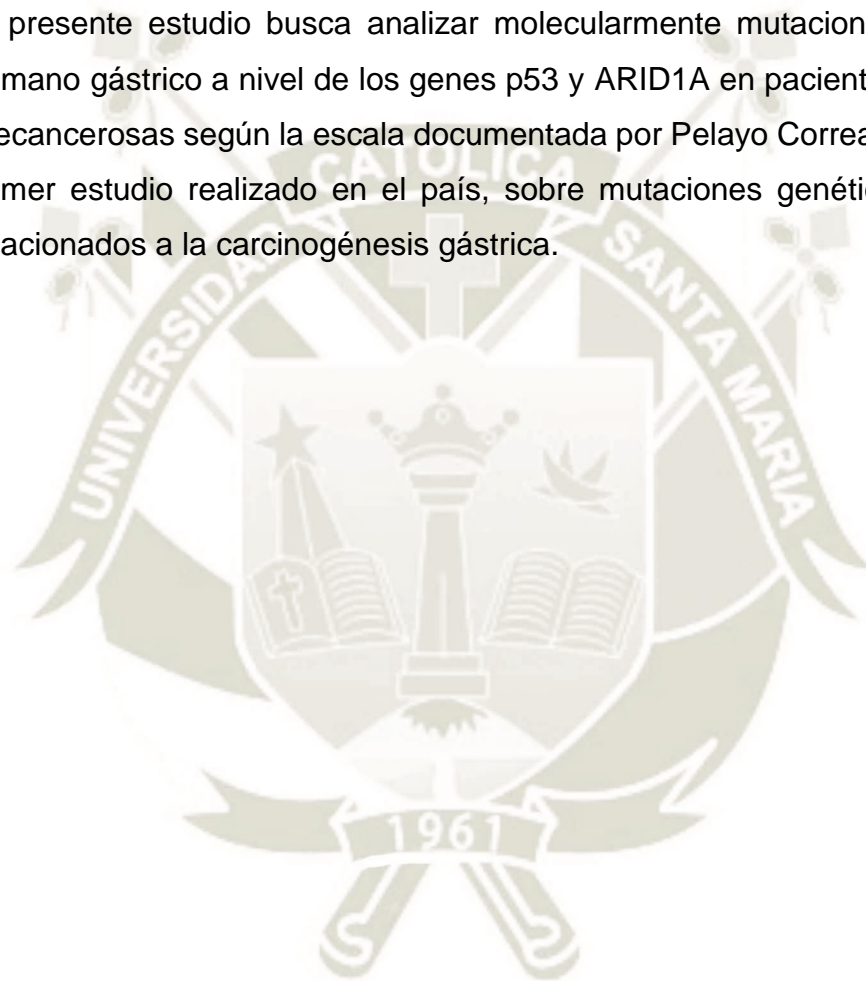
El gen ARID1a codifica una proteína componente del sistema que organiza la cromatina y es clave en la reparación de los daños en ésta, de manera que la pérdida de función de ese gen resulta en una disminuida capacidad de detectar y corregir el daño al ADN (investigadores del MD Anderson Cancer Center).

No existen estudios sobre los perfiles de expresión génica de remodelación de la cromatina en lesiones precancerosa y sus valores como biomarcadores de carcinogénesis gástrica. Se necesitan más estudios para dilucidar el valor de

estos genes definidos como biomarcadores para la detección de cáncer gástrico.

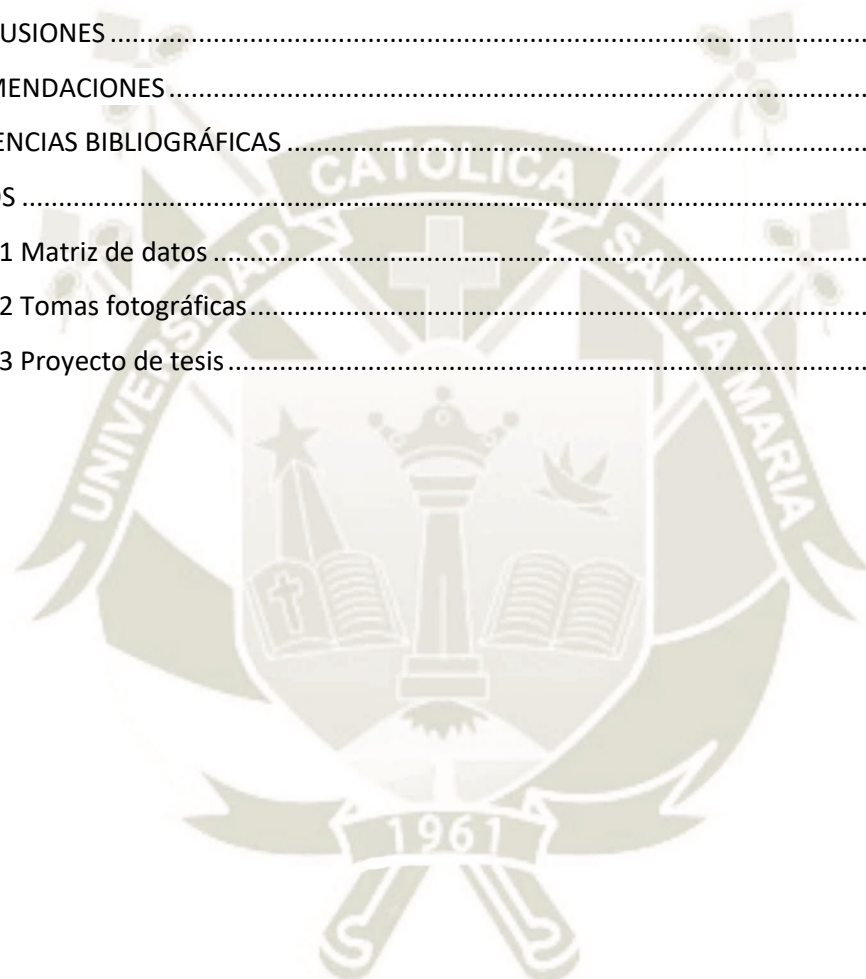
Por lo que aún queda mucho por hacer para abordar el aumento alarmante de la carga de cáncer gástrico a nivel nacional y que la prevención y detección temprana tienen un papel clave que desempeñar por lo que se requieren más estudios para ofrecer una información más detallada de estas bases genéticas

El presente estudio busca analizar molecularmente mutaciones del genoma humano gástrico a nivel de los genes p53 y ARID1A en pacientes con lesiones precancerosas según la escala documentada por Pelayo Correa, siendo este el primer estudio realizado en el país, sobre mutaciones genéticas específicos relacionados a la carcinogénesis gástrica.



ÍNDICE

RESUMEN	vi
ABSTRACT	vii
INTRODUCCIÓN	viii
CAPÍTULO I MATERIALES Y MÉTODOS	1
CAPÍTULO II RESULTADOS	7
CAPITULO III DISCUSIÓN.....	21
CONCLUSIONES	25
RECOMENDACIONES.....	26
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	27
ANEXOS	32
Anexo 1 Matriz de datos	33
Anexo 2 Tomas fotográficas.....	34
Anexo 3 Proyecto de tesis.....	39

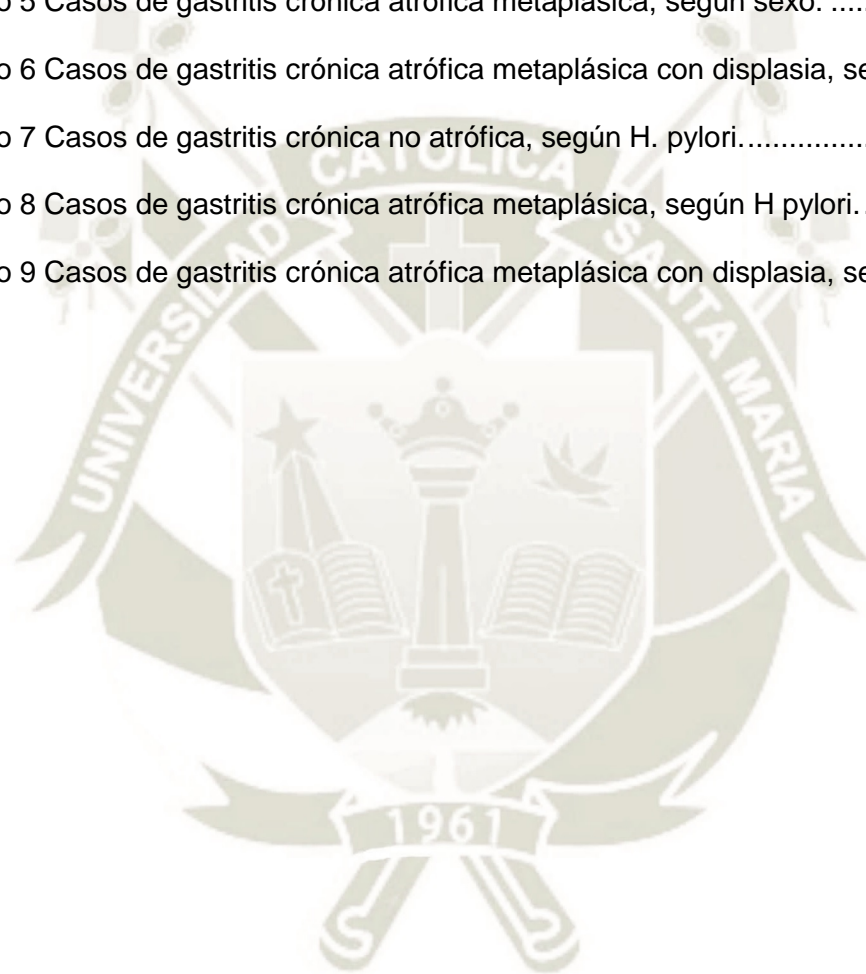


ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Casos de gastritis crónica no atrófica, según edad	8
Tabla 2. Casos de gastritis crónica metaplásica, según edad.	10
Tabla 3. Casos de gastritis crónica metaplásica con displasia, según edad.....	12
Tabla 4. Casos de gastritis crónica no atrófica, según sexo.....	14
Tabla 5. Casos de gastritis crónica atrófica metaplásica, según sexo.....	15
Tabla 6. Casos de gastritis crónica atrófica metaplásica con displasia, según sexo.	16
Tabla 7. Casos de gastritis crónica no atrófica, según H. pylori.	17
Tabla 8. Casos de gastritis crónica atrófica metaplásica, según H pylori.	18
Tabla 9. Casos de gastritis crónica atrófica metaplásica con displasia, según H pylori. ...	19
Tabla 10. Extracción de ADN en muestras de tacos de parafina pacientes con gastritis crónica no atrófica, atrófica sin metaplasia, metaplásica y metaplásica con displasia.....	20

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Casos de gastritis crónica no atrófica, según edad.....	8
Gráfico 2 Casos de gastritis crónica metaplásica, según edad.	10
Gráfico 3 Casos de gastritis crónica metaplásica con displasia, según edad.	12
Gráfico 4 Casos de gastritis crónica no atrófica, según sexo.	14
Gráfico 5 Casos de gastritis crónica atrófica metaplásica, según sexo.	15
Gráfico 6 Casos de gastritis crónica atrófica metaplásica con displasia, según sexo.	16
Gráfico 7 Casos de gastritis crónica no atrófica, según H. pylori.....	17
Gráfico 8 Casos de gastritis crónica atrófica metaplásica, según H pylori.....	18
Gráfico 9 Casos de gastritis crónica atrófica metaplásica con displasia, según H pylori. .	19





CAPÍTULO I
MATERIALES Y MÉTODOS

1. Técnicas, instrumentos y materiales:

1.1. Técnicas.

Se empleará la técnica de análisis molecular mediante extracción de ADN mediante el método HOLLINGER, amplificación por PCR con primers de ambos genes correspondientes al estudio

1.2. Instrumento

Ficha de Observación

1.3. Modelo de laboratorio

a. Extracción de ADN

Para las muestras parafinadas se usó el método de desparafinado con xilol

- I. Recolección de muestra en tubo eppendorff, con una pipeta se tomó 40 ul de xilol. Posteriormente re realizó el lavado de parafina con la misma cantidad de xilol y se eliminó el excedente de parafina.
- II. se volvió a realizar un lavado con etanol y llevado al vórtex por 2 ciclos, para eliminar lo restante de parafina.
- III. Se eliminó el etanol y se deshidrató/volatilizó la muestra por 5 min.

Para la extracción de ADN per se, se utilizó el método fenol-cloroformo.

- i. Se colocaron las muestras en un tubo Eppendorff, Con una pipeta se tomó 500 ul de buffer TE. Se le agregó micro perlas, fue llevado a vórtex por 5 minutos.
- ii. El sobrenadante se pasó a un nuevo Eppendorf y se agregó 600 ul de Fenol-cloroformo-alcohol isoamílico. Se agitó por inversión unos segundos. Se centrifugó por 5 minutos a 13 000 rpm, se obtuvieron 3 fases. Se retiró la fase superior a un nuevo tubo, se agregó 800 ul de isopropanol frio y se mezcló por inversión. Se centrifugó a 13 000 rpm por 10 minutos. Se eliminó el isopropanol por decantación

- iii. Se agregó 500 ul de Etanol 75° y se centrifugó nuevamente a 13 000 rpm de 1 – 2 minutos. Se eliminó el Etanol y se dejó secar los tubos en un termoblock a 65° por unos minutos (tubos abiertos)
- iv. Se re suspendió el ADN en 100 ul de Agua ultra pura y se incubó en calor de 3 – 4 minutos y se congeló hasta su uso.
- v. Se rotuló cada tubo con la fecha y el código del paciente.

Para evaluar la pureza y cantidad de acidos nucleicos en cada muestra se realizó su medición en NANOPHOTOMER, obteniéndose de cada muestra una lectura de A260/A280>1.8 (óptima).

b. Secuenciación Molecular

Las muestras serán amplificadas, purificadas y enviadas para la secuenciación automática al Laboratorio Functional Biosciences, Inc. En Wisconsin USA. Con los siguientes primers para la detección de mutaciones genómicas en

- Gen p53: forward, 5'CCGCGCCATGGCCATCT; reverse, 5'GCGCTCATGGTGGGGG (Hha1) for exon 5, hot spot codon 175. forward, 5'GTCCCCAGGCCTCTGATTCCTC; reverse, 5'TAACCCTCCTCCCAGAGACCCCAG (*Taq1*) for exon 6, hot spot codon 213
- Gen ARID1A: forward 1 20'GGAGAACCTTTGGGAAAGGAG; reverse 2, 20'GGCTTCGAATGGTATTGGACA; forward 3 20' GCTAAGAGTTCAGAGGCCATCA; reverse 4 20' CGCATCATGTCCACACTA for exon 20.

c. Análisis de secuencias:

Las secuencias de nucleótidos obtenidas serán comparadas con las secuencias de la base de datos GenBank.

2. Campo de verificación.

- Ubicación espacial: La presente investigación se realizó en el laboratorio de biología molecular de la UCSM, a partir de muestras parafinadas del laboratorio de anatomía patológica "Ortiz y Postigo".

- Ubicación temporal: El estudio se realizó entre los periodos comprendidos entre diciembre del 2019 a febrero del 2020.
- Unidades de estudio:
 - Universo: Tejidos de biopsia en tacos de parafina con diagnóstico histopatológico pacientes con gastritis crónica no atrófica, gastritis crónica atrófica sin metaplasia, gastritis crónica atrófica metaplásica, gastritis crónica atrófica metaplásica con displasia.
 - Población y muestras:
 - a) 10 muestras de tacos de parafina con diagnóstico histopatológico de gastritis crónica no atrófica.
 - b) 10 muestras de tacos de parafina con diagnóstico histopatológico de gastritis crónica atrófica sin metaplasia.
 - c) 10 muestras de tacos de parafina con diagnóstico histopatológico de gastritis crónica atrófica metaplásica.
 - d) 10 muestras de tacos de parafina con diagnóstico histopatológico gastritis crónica atrófica metaplásica con displasia.

3. Criterios de selección:

Criterios de inclusión

- Diagnóstico de gastritis crónica no atrófica confirmado mediante biopsia positivos y negativos a H. Pylori
- Diagnóstico de gastritis crónica atrófica sin metaplasia mediante biopsia positivos y negativos a H. Pylori
- Diagnóstico de gastritis crónica atrófica metaplásica mediante biopsia positivos y negativos a H. Pylori
- Diagnóstico de gastritis crónica atrófica metaplásica con displasia mediante biopsia positivos y negativos a H. Pylori
- Diagnóstico de las patologías de estudio con tratamiento erradicador de H. Pylori
- muestras de biopsia obtenidas mediante el protocolo Sydney.

Criterios de exclusión

- Gastritis crónica de tipo autoinmune.
- Almacenamiento de tacos de parafina por más de 2 años

- o Muestra insuficiente

4. Estrategia de recolección de datos:

Organización

Se realizó las coordinaciones con el laboratorio de anatomía patológica “Ortiz y Postigo” para la realización del estudio.

Para las muestras de tacos de parafina: Se buscó en el registro digital del laboratorio de anatomía patológica “Ortiz y Postigo” con los siguientes *keywords*: “*gastritis crónica no atrófica*” “*gastritis crónica atrófica*” “*metaplasia*” “*displasia*”, se tomaron los datos de interés en una ficha de recolección de datos (Anexo 1), se verificó el cumplimiento de los criterios de selección, y se realizó una revisión microscópica de las láminas procedentes de los tacos de parafina, se marcaron las zonas patológicas (con atrofia, metaplasia y displasia) y las zonas normales (sin lesión), se procesaron de forma inmediata en el laboratorio de biología molecular de la Universidad Católica Santa María.

Entre los casos que cumplieron los criterios de selección, se contactó a los pacientes, se les informó sobre el presente proyecto y en qué consiste la investigación, posteriormente se les solicitó la firma del consentimiento informado (Anexo 2) para su participación en el mismo, se les comunicará la información derivada de la investigación que sea relevante y aplicable para su salud o la de su familia. Se procederá a extraer el ADN de muestras parafinadas para luego realizar su secuenciación molecular, utilizando primers específicos para los genes P53 Y ARID1A. Se realizará un análisis bioinformático de los resultados del secuenciamiento y se procesarán los datos obtenidos

Recursos:

- **Humanos:**

- o Investigadores
- o Asesor
- o Personal especialista en laboratorio

- **Materiales:**

- Material e infraestructura del laboratorio de Biología Molecular UCSM:
 - o Reactivos: xilol, fenolcloroformo, etanol, buffer TE, RNA asa
 - o Tunos eppendorf
 - o Micropipetas (4 Juegos de 3 c/u)

- Vórtex
- Gel de agarosa
- Centrífuga
- Nanophotometer
- Medios de Cultivo
- Factores de crecimiento
- Análisis de secuencias
- Fichas de recolección de datos.
- Material de escritorio
- Computadora personal
- Programa estadístico.
- Impresora.
- **Financieros:**

El estudio será financiado por la Universidad Católica de Santa María, a través del fondo para la investigación del Vicerrectorado de investigación

 - Proyecto: CARACTERIZACIÓN DEL MICROBIOMA HUMANO BACTERIANO GASTROINTESTINAL Y SU ASOCIACION CON EL CANCER GASTRICO Y COLORECTAL: UN ESTUDIO BASADO EN LA TECNOLOGIA DE “NEXT GENERATION SEQUENCE”

Criterios para manejo de resultados:

a) Plan de Procesamiento

Los datos registrados en el Anexo 1 fueron codificados y tabulados para su análisis e interpretación.

b) Plan de Clasificación:

Se empleó una matriz de sistematización de datos donde se transcribió los datos recolectados. La matriz fue diseñada en una hoja de cálculo de Excel.

c) Plan de análisis

Los datos que se obtuvieron fueron analizados estadísticamente, para determinar la frecuencia en porcentaje de los casos recolectados.



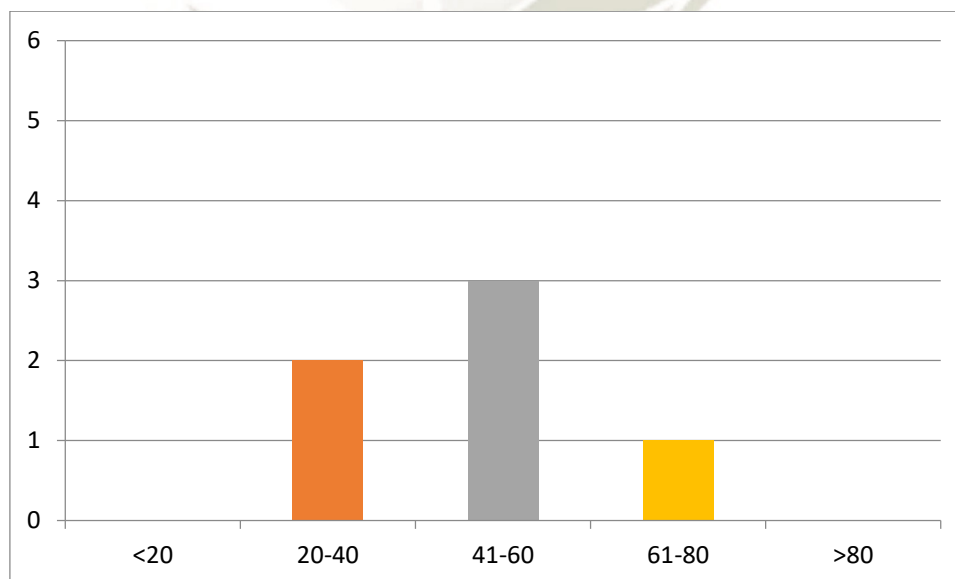
Tabla 1.
Casos de gastritis crónica no atrófica, según edad

EDAD (AÑOS)	N	%
< 20	0	0.0%
20-40	2	33.3%
40-60	3	50.0%
60-80	1	16.7%
> 80	0	0.0%
TOTAL	6	100%

Fuente: Elaboración propia

En la tabla 1 se observa el número de casos confirmados de gastritis crónica no atrófica por anatomía patológica, según la edad. El mayor número de casos se evidenció en el rango de edad de 40 a 60 años (50.0%), mientras que el menor número de casos se muestra en el rango de 60 a 80 años (16.7%).

Gráfico 1.
Casos de gastritis crónica no atrófica, según edad



Fuente: Elaboración propia

En el gráfico 1 se evidencia el número de casos de gastritis crónica no atrófica, según la edad. El grupo etario predominante corresponde al rango de 41 a 60 años, con 3 casos en total.



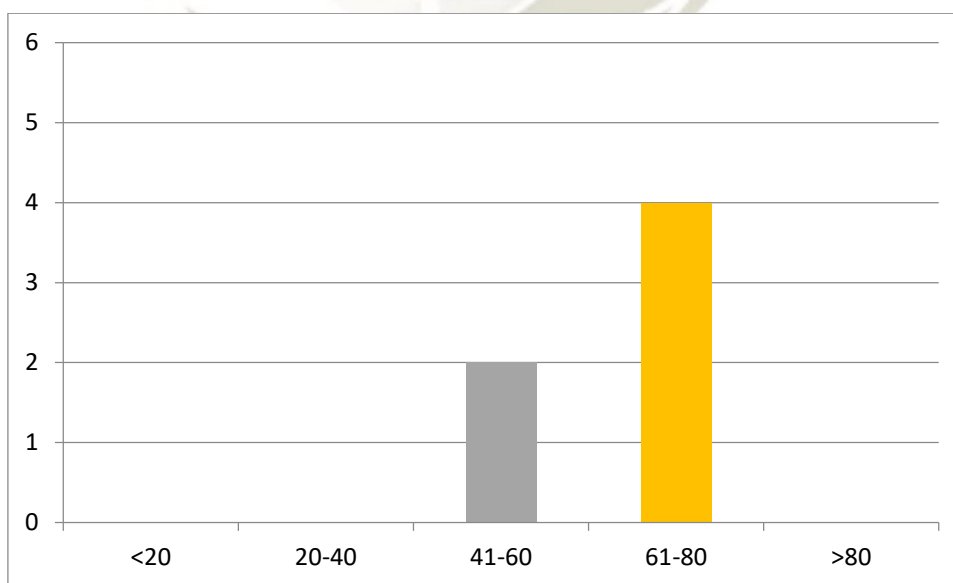
Tabla 2.
Casos de gastritis crónica metaplásica, según edad.

EDAD (AÑOS)	N	%
< 20	0	0.0%
20-40	0	0.0%
40-60	2	33.3%
60-80	4	66.7%
> 80	0	0.0%
TOTAL	6	100%

Fuente: Elaboración propia

En la tabla 2 se observa el número de casos confirmados de gastritis crónica atrófica metaplásica patológica, según la edad. El mayor número de casos se evidenció en el rango de edad de 60 a 80 años (66.7%), mientras que el menor número de casos se muestra en el rango de 40 a 60 años (33.7%).

Gráfico 2
Casos de gastritis crónica metaplásica, según edad.



Fuente: Elaboración propia

En el gráfico 2 se evidencia el número de casos de gastritis crónica atrófica metaplásica, según la edad. El grupo etario predominante corresponde al rango de 61 a 80 años, con 4 casos en total.



Tabla 3.

Casos de gastritis crónica metaplásica con displasia, según edad.

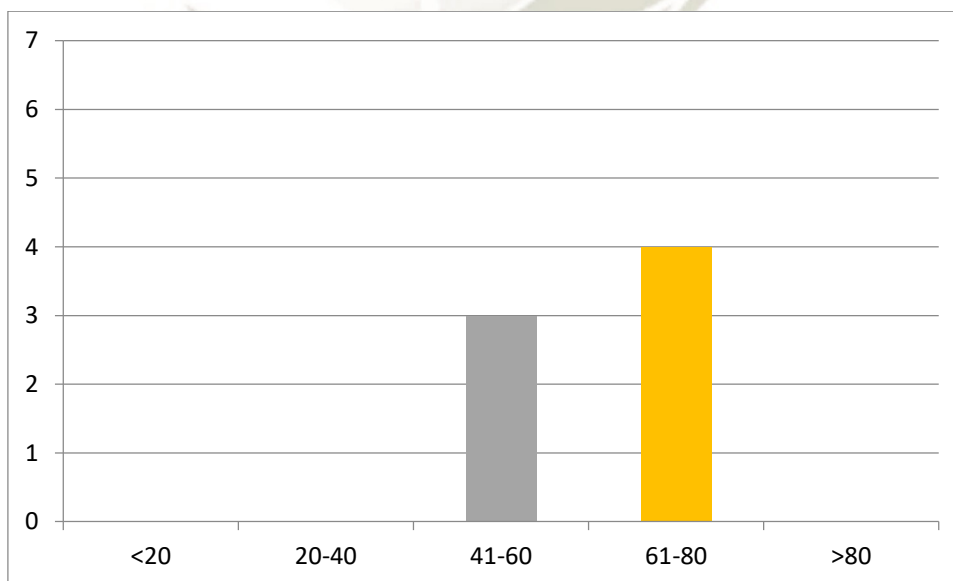
EDAD (AÑOS)	N	%
< 20	0	0.0%
20-40	0	0.0%
40-60	3	42.9%
60-80	4	57.1%
> 80	0	0.0%
TOTAL	7	100%

Fuente: Elaboración propia

En la tabla 3 se observa el número de casos confirmados de gastritis crónica atrófica metaplásica con displasia, según la edad. El mayor número de casos se evidenció en el rango de edad de 60 a 80 años (57.1%), mientras que el menor número de casos se muestra en el rango de 40 a 60 años (42.9%).

Gráfico 3

Casos de gastritis crónica metaplásica con displasia, según edad.



Fuente: Elaboración propia

En el gráfico 3 se evidencia el número de casos de gastritis crónica atrófica metaplásica con displasia, según la edad. El grupo etario predominante corresponde al rango de 61 a 80 años, con 4 casos en total.



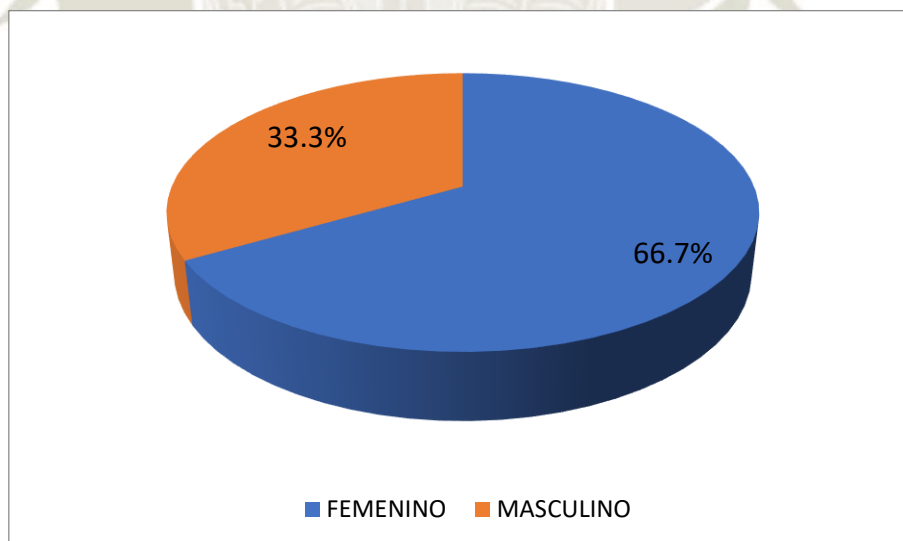
Tabla 4.
Casos de gastritis crónica no atrófica, según sexo.

EDAD (AÑOS)	N	%
Femenino	4	66.7%
Masculino	2	33.3%
TOTAL	6	100%

Fuente: Elaboración propia

En la tabla 4 se observa el número de casos confirmados de gastritis crónica no atrófica por anatomía patológica, según sexo. El mayor número de casos se evidenció en el sexo femenino (66.7%), mientras que el menor número de casos se muestra en el sexo masculino (33.3%).

Gráfico 4
Casos de gastritis crónica no atrófica, según sexo.



Fuente: Elaboración propia

El Gráfico 4 muestra el menor porcentaje (33.3%) que representan los pacientes de sexo masculino con el diagnóstico de gastritis crónica no atrófica.

Tabla 5.

Casos de gastritis crónica atrófica metaplásica, según sexo.

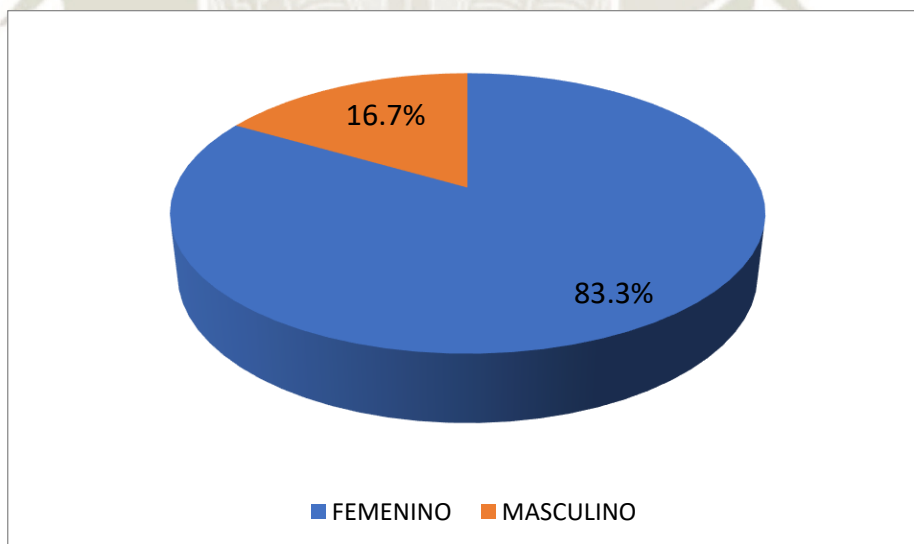
EDAD (AÑOS)	N	%
Femenino	5	83.3%
Masculino	1	16.7%
TOTAL	6	100%

Fuente: Elaboración propia

En la tabla 5 se observa el número de casos confirmados de gastritis crónica atrófica metaplásica por anatomía patológica, según sexo. El mayor número de casos se evidenció en el sexo femenino (83.3%), mientras que el menor número de casos se muestra en el sexo masculino (16.7%).

Gráfico 5

Casos de gastritis crónica atrófica metaplásica, según sexo.



Fuente: Elaboración propia

El Gráfico 5 muestra el menor porcentaje (16.7%) que representan los pacientes de sexo masculino con el diagnóstico de gastritis crónica atrófica metaplásica.

Tabla 6.

Casos de gastritis crónica atrófica metaplásica con displasia, según sexo.

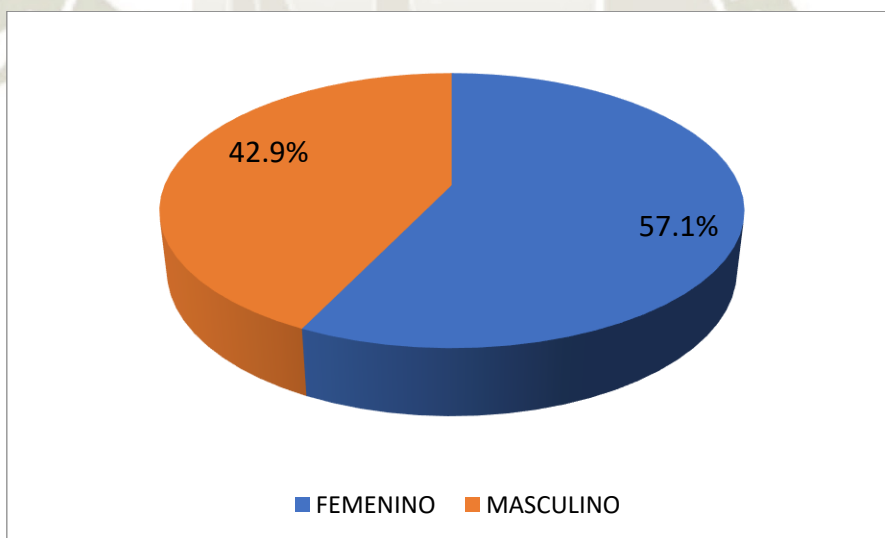
EDAD (AÑOS)	N	%
Femenino	4	57.1%
Masculino	3	42.9%
TOTAL	7	100%

Fuente: Elaboración propia

En la tabla 6 se observa el número de casos confirmados de gastritis crónica atrófica metaplásica con displasia por anatomía patológica, según sexo. El mayor número de casos se evidenció en el sexo femenino (57.1%), mientras que el menor número de casos se muestra en el sexo masculino (42.9%).

Gráfico 6

Casos de gastritis crónica atrófica metaplásica con displasia, según sexo.



Fuente: Elaboración propia

El Gráfico 6 muestra el menor porcentaje (42.9%) que representan los pacientes de sexo masculino con el diagnóstico de gastritis crónica atrófica metaplásica con displasia.

Tabla 7.

Casos de gastritis crónica no atrófica, según H. pylori.

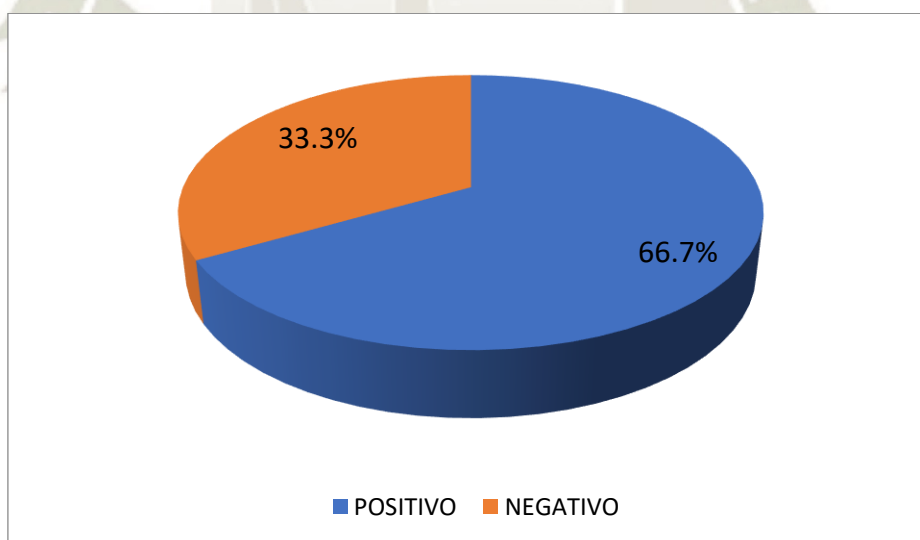
EDAD (AÑOS)	N	%
Positivo	4	66.7%
Negativo	2	33.3%
TOTAL	6	100%

Fuente: Elaboración propia

En la tabla 7 se observa el número de casos confirmados de gastritis crónica no atrófica por anatomía patológica, según H pylori. El mayor número de casos se evidenció como positivo con H pylori (66.7%), mientras que el menor número de casos se muestran negativo (33.3%).

Gráfico 7

Casos de gastritis crónica no atrófica, según H. pylori.



Fuente: Elaboración propia

El Gráfico 7 muestra el menor porcentaje (33.3%) que representan los pacientes con H. pylori en diagnóstico de gastritis crónica no atrófica.

Tabla 8.

Casos de gastritis crónica atrófica metaplásica, según H pylori.

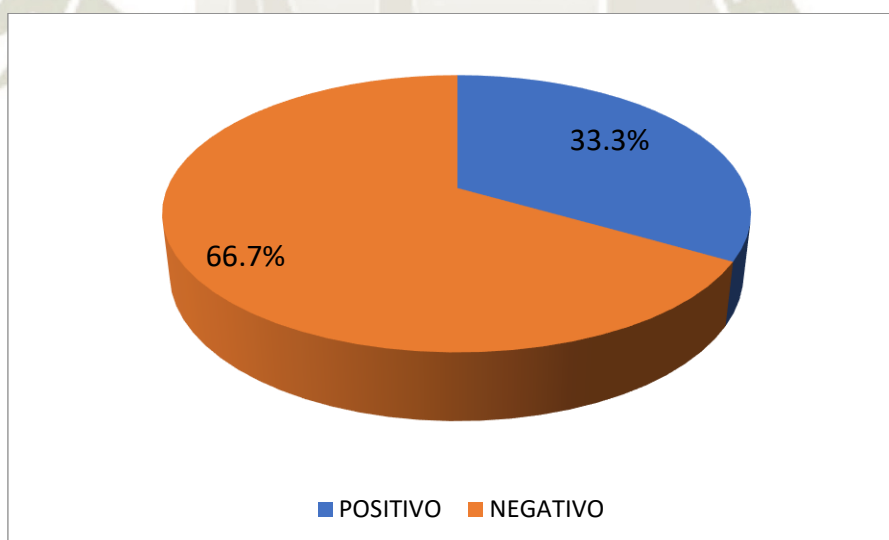
EDAD (AÑOS)	N	%
Positivo	2	33.3%
Negativo	4	66.7%
TOTAL	6	100%

Fuente: Elaboración propia

En la tabla 8 se observa el número de casos confirmados de gastritis crónica atrófica metaplásica por anatomía patológica, según H. pylori. El mayor número de casos se evidenció negativo para H. pylori (66.7%), mientras que el menor número de casos se muestra positivo (33.3%).

Gráfico 8

Casos de gastritis crónica atrófica metaplásica, según H pylori.



Fuente: Elaboración propia

El Gráfico 8 muestra el menor porcentaje (33.3%) que representan los pacientes con H. pylori positivo con el diagnóstico de gastritis crónica atrófica metaplásica.

Tabla 9.

Casos de gastritis crónica atrófica metaplásica con displasia, según H pylori.

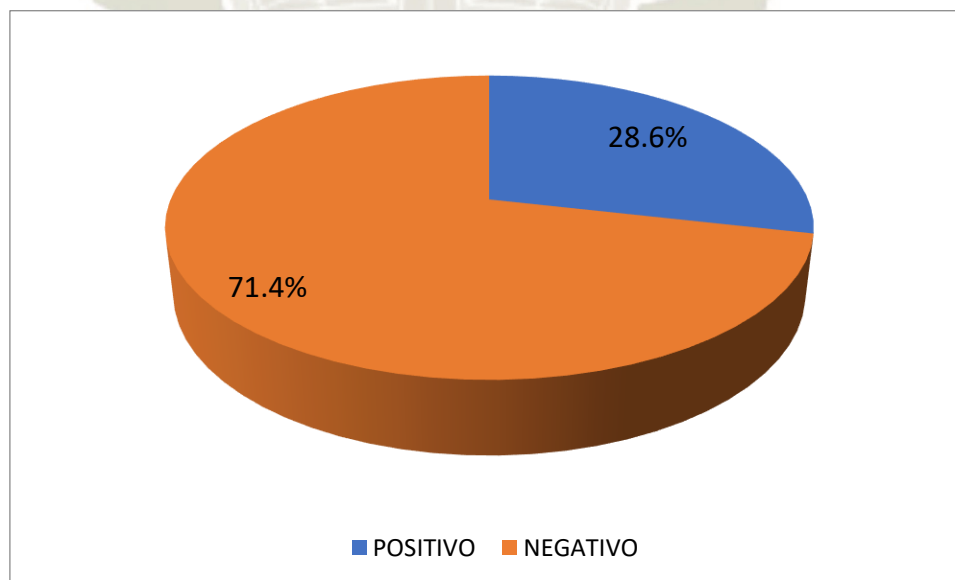
EDAD (AÑOS)	N	%
Positivo	2	28.6%
Negativo	5	71.4%
TOTAL	7	100%

Fuente: Elaboración propia

En la tabla 9 se observa el número de casos confirmados de gastritis crónica atrófica metaplásica con displasia por anatomía patológica, según H. pylori. El mayor número de casos se evidenció negativo para H. pylori (71.4%), mientras que el menor número de casos se muestra positivo (28.6%).

Gráfico 9

Casos de gastritis crónica atrófica metaplásica con displasia, según H pylori.



Fuente: Elaboración propia

El Gráfico 9 muestra el menor porcentaje (28.6%) que representan los pacientes con H. pylori positivo con el diagnóstico de gastritis crónica atrófica metaplásica con displasia.

Tabla 10.

Extracción de ADN en muestras de tacos de parafina pacientes con gastritis crónica no atrófica, atrófica sin metaplasia, metaplásica y metaplásica con displasia

CODIGO	TIPO DE MUESTRA	EXTRACCIÓN DE ADN
PP1	Taco de parafina	Negativo
PP2	Taco de parafina	Negativo
PP3	Taco de parafina	POSITIVO
PP4	Taco de parafina	POSITIVO
PP5	Taco de parafina	POSITIVO
PP6	Taco de parafina	POSITIVO
PP7	Taco de parafina	POSITIVO
PP8	Taco de parafina	POSITIVO
PP9	Taco de parafina	POSITIVO
PP10	Taco de parafina	POSITIVO
PP11	Taco de parafina	POSITIVO
PP12	Taco de parafina	Negativo
PP13	Taco de parafina	Negativo
PP14	Taco de parafina	POSITIVO
PP15	Taco de parafina	POSITIVO
PP16	Taco de parafina	POSITIVO
PP17	Taco de parafina	Negativo
PP18	Taco de parafina	Negativo
PP19	Taco de parafina	Negativo
PP20	Taco de parafina	Negativo
PP21	Taco de parafina	POSITIVO
PP22	Taco de parafina	POSITIVO
PP23	Taco de parafina	POSITIVO
PP24	Taco de parafina	POSITIVO
PP25	Taco de parafina	POSITIVO
PP26	Taco de parafina	POSITIVO
PP27	Taco de parafina	POSITIVO
PP28	Taco de parafina	POSITIVO
PP29	Taco de parafina	POSITIVO
PP30	Taco de parafina	POSITIVO

Fuente: Elaboración propia

En la tabla 10 se muestra los resultados de la extracción de ADN en muestras de tacos de parafina, donde se evidencia que independientemente de si la zona contenía o no la lesión, el 80% de las muestras contenían ADN.



**CAPITULO III
DISCUSIÓN**

Esta investigación se planteó debido al incremento en la incidencia y prevalencia de cáncer gástrico a nivel mundial, es el quinto cáncer diagnosticado con más frecuencia y la tercera causa principal de muerte por cáncer, además de la creciente evidencia de que aunque H.Pylori pueda ser el más relevante, no es el único factor predisponente que conduce a enfermedades gástricas, como la gastritis y posteriormente cáncer gástrico ya que la mitad de pacientes con gastritis son negativos para la infección de H.Pylori y la abundancia de esta bacteria disminuye en pacientes con cáncer.

El principal objetivo de la investigación fue identificar las diferencias en las mutaciones de los genes P53 y ARID1A en pacientes adultos con estadios pre neoplásicos gástricos según la escala de Pelayo Correa y su valor como biomarcadores tempranos de carcinogénesis gástrica (6).

En las tablas y gráficos 1, 2 y 3 se evidencian el número de casos confirmados con gastritis crónica no atrófica, atrófica metaplásica y metaplásica con displasia, según la edad. El grupo etario con mayor número de casos en el primer grupo comprendió desde los 41 a 60 años, representando el 50% del total de casos por otro lado los otros 2 grupos de estudio se evidenció en el rango de edad de 60 a 80 años representando en el caso gastritis crónica atrófica metaplásica el 66.7% y gastritis crónica metaplásica con displasia el 57.1% y el grupo etario menos representativo en el grupo 1 fueron los pacientes menores de 20 años, no encontrándose ninguno, en los otros 2 grupos de estudio el menor número de casos se muestra en el rango de 40 a 60 años para ambos casos.

En las tablas y gráficos 4, 5 y 6, se muestra la relación de gastritis crónica no atrófica, atrófica metaplásica, metaplásica con displasia y el sexo, siendo el sexo femenino el de mayor porcentaje en los tres grupos de estudio, 66.7%, 83.3%, y 57.1% respectivamente, el masculino el restante. Según los datos de GLOBOCAN 2018 (observatorio global del cáncer), el cáncer gástrico es la tercera causa de muerte por cáncer en todo el mundo, después de solo el cáncer de pulmón y colorrectal en la mortalidad general. Aproximadamente 1 de cada 12 de todas las muertes oncológicas son atribuibles al cáncer gástrico. Según el análisis de la situación del cáncer en el Perú (ASIS) el cáncer gástrico es una de las entidades más agresivas y frecuentes, representando el 14,7% de las causas de mortalidad por cáncer en varones (sólo detrás del cáncer de próstata) y 13,4% en mujeres (44).

En las tablas y gráficos 7, 8 y 9, se muestra la relación de gastritis crónica no atrófica, atrófica metaplásica, metaplásica con displasia y la infección por la bacteria *Helicobacter Pylori*, siendo el primer grupo de estudio con mayor porcentaje positivo a *H pylori* (66.7%), a diferencia en el segundo grupo que muestra positivo sólo en un 33.3% y el tercer grupo en 28.6%. se evidencia que conforme la escala precancerosa según Correa avanza, la infección por *H. Pylori* se negativiza. La infección crónica con cepas *Helicobacter pylori* es el factor de riesgo más fuertemente relacionado, sin embargo la mitad de pacientes con gastritis son negativos para la infección de *H.Pylori* y la abundancia de esta bacteria disminuye en pacientes con cáncer (6).

La tabla 10 evidencia los resultados de la extracción de ADN en muestras de tacos de parafina, donde en el 100% de muestras no se pudo extraer ADN. Las muestras de tacos de parafina, constituirían un importante banco de muestras para el análisis molecular genético, ya sean de mutaciones o en este caso, identificación de bacterias. El procesamiento de los tacos de parafina en este estudio se realizó según el protocolo propio del laboratorio particular, que sería el mismo utilizado en los laboratorios de patología de los distintos hospitales de nuestra ciudad, durante años; que involucra de manera general, una vez recibida la muestra, se comprueba el aspecto macroscópico y el envase y el método de preservación usado, se realiza la fijación con formalina neutra al 10% y posteriormente a la inclusión con parafina para la formación del taco de parafina. Es de vital importancia considerar que además del procesamiento per se de los tacos de parafina, el reclutamiento de las muestras y su almacenamiento hasta el procesamiento, carece de cualquier tipo de protocolo, siendo el método más usado, la conservación con formol, alcohol, o suero salino a concentraciones indiscriminadas, pudiendo esta afectar y dañar la calidad del ADN de la muestra, según Douglas en 1998 (46).

Lamentablemente para este estudio, no se contó con el registro del método de conservación en el que fueron trasladadas las muestras desde el centro quirúrgico al laboratorio de patología, la recomendación actual de la sociedad de anatomía patológica de España, desde el año 2011, indica que el método de preservación debe ser idealmente formol buffer o neutro al 10% dentro de la primera hora de la extracción de la muestra quirúrgica, y en caso de que no se cuente con ello,

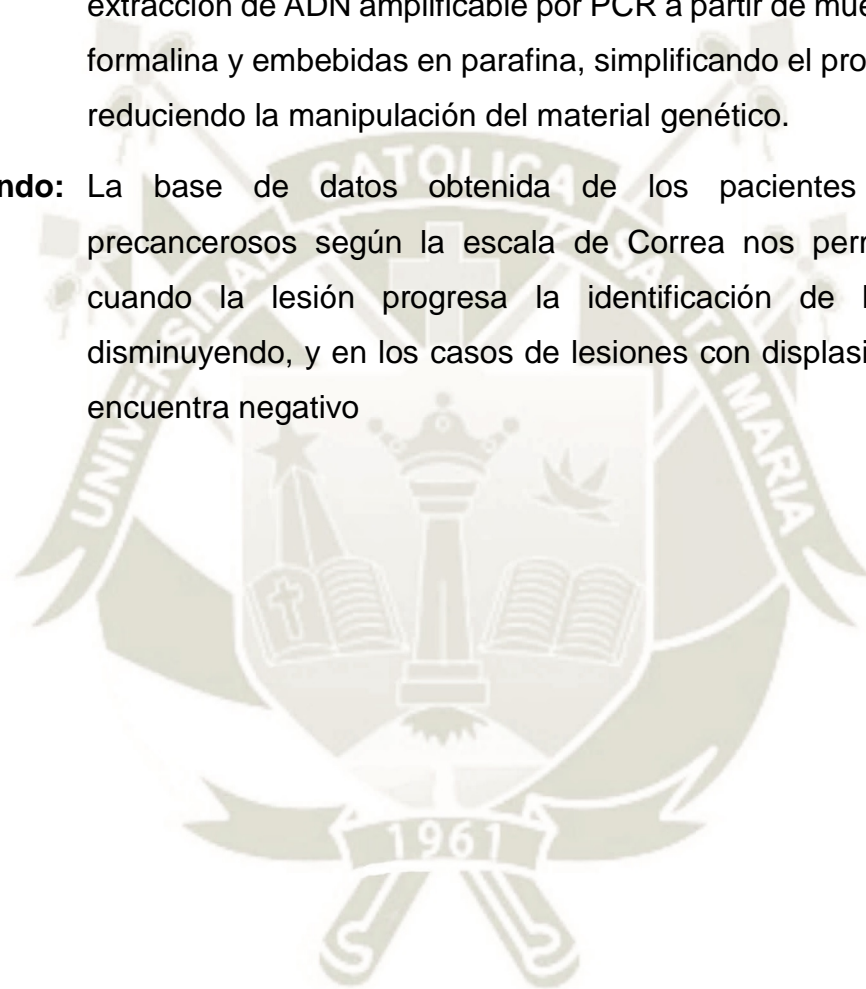
mantener la muestra a una temperatura de 4°C por un tiempo menor de una hora, y coordinar con el laboratorio de anatomía patológica (48).

Minho Cho et al. argumenta que resulta necesario establecer recomendaciones o guías para el manejo de muestras de tejidos para el posterior análisis de secuenciación genética, resalta la importancia de la calidad del ADN que afectaría la calidad de la secuenciación y el resultado final; se menciona que para los estudios de secuenciación serían mejor las muestras en fresco que los tacos de parafina (FFPE), sin embargo, estas últimas resultan más accesibles (49).

En el 2019 el autor Mc Donough, realiza una revisión de los métodos de extracción de ADN en la secuenciación de ADN derivado de muestras de tacos de parafina (FFPE), donde se evaluaron nueve métodos distintos de extracción de ADN a partir de FFPE en veinte muestras, incluyendo protocolos manuales y automáticos, donde el método King Fisher FFPE fue el aportó mayor cobertura molecular. Los cinco protocolos automatizados ofrecieron mayor facilidad de uso, con TKM-A es el protocolo más completamente automatizado con la menor cantidad de pasos iniciales de preparación de muestras manuales, mientras que los protocolos “mecánicos” tuvieron pobres resultados en cuanto a calidad de ADN. En el presente estudio, la extracción de ADN fue de forma manual, y esto debido a la disponibilidad y costo alto de los kits de extracción automática y manual de ADN (50).

CONCLUSIONES

- Primero:** Debido a que la amplificación mediante la reacción en cadena de la polimerasa, usando primer diseñados, fue débil para su secuenciación y no permitió identificar las mutaciones en los grupos de estudio se debe optimizar los métodos usados dada la importancia de la extracción de ADN amplificable por PCR a partir de muestras fijadas en formalina y embebidas en parafina, simplificando el protocolo original y reduciendo la manipulación del material genético.
- Segundo:** La base de datos obtenida de los pacientes con estadios precancerosos según la escala de Correa nos permite inferir que cuando la lesión progresa la identificación de la bacteria va disminuyendo, y en los casos de lesiones con displasia en el 70% se encuentra negativo



RECOMENDACIONES

- Primero:** Usar el método estandarizado por varios ensayos clínicos para el manejo de muestras de tejidos para el posterior análisis de secuenciación genética,
- Segundo:** La base de datos obtenida de los pacientes con estadios precancerosos según la escala de Correa nos permite inferir que cuando la lesión progresa la identificación de la bacteria va disminuyendo, y en los casos de lesiones con displasia en el 70% se encuentra negativo



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Valdivia M. Gastritis y gastropatías. Rev. Gastroenterol, 31(1), 38-48. Perú; 2011.
2. Cilleruelo M. y Fernández S. Gastritis. Ulcus gástrico y duodenal. Rev. Protocolos diagnóstico-terapéuticos de SEGHNPAEP, 1, 85-91. España; 2010.
3. Ramos E. Gastritis, úlcera y hemorragia digestiva. Rev. Pediatría Integral. 19 (2), 83-91. Servicio de Gastroenterología Infantil, Hospital Universitario La Paz. Madrid, España; 2015.
4. Ramírez A., Mendoza D., Leey J., y Guerra J. Estudio del Helicobacter pylori en el Perú. Rev. perú. med. exp. salud pública. 19(4), 209-214. Lima, Perú; 2002.
5. Ramirez A., y Gilman R., Helicobacter pylori en el Perú. 8(1), pp 129-134. Gastritis. Lima, Perú; 2000.
6. Correa P., y Piazuolo M. Natural history of Helicobacter pylori infection. Digestive and Liver Disease. 40(7), pp 490; 2008.
7. Rodriguez, J., Boffil A., Rodriguez L., Lozada J. y Socias, Z. Factores de riesgo asociados a la gastritis aguda o crónica en adultos de un hospital ecuatoriano. Medisan 23(3), 424-434. 2019
8. Sedena. Profilaxis, Diagnóstico y Tratamiento de Gastritis Aguda (Erosiva) en Adultos en los Tres Niveles de Atención. Guía de práctica clínica, 1-6. Consejo de Salubridad General, Gobierno Federal, México; 2005.
9. Correa P. y Yardley J. Grading and classification of chronic gastritis. One american response to the Sydney System. Rev. Gastroenterology 102, 355-359. Australia; 1992.
10. Dixon M., Genta R., Yardley J., y Correa P. Classification and grading of gastritis: the updated Sydney System. Am J Surg Pathol, 20(10), 1161-1181, Houston, USA; 1996.
11. Gaviria J. y Melguizo M. Gastritis crónica. Correlación de la clasificación de Sydney con el diagnóstico endoscópico. Rev. Colomb Cir, 19(3), 162-167. Medellin, Colombia; 2004.

12. Conteduca V., et al. H. pylori infection and gastric cancer: State of the art (review). *Int J Oncol* 42, 5-18; 2013.
13. Ministerio de salud. Guía médica de la práctica clínica. Servicio de Gastroenterología. Hospital Regional Cajamarca. Perú.
14. Correa P., et al. Gastric precancerous process in a high risk population: Cohort Follow-up. *Cancer Research*, (50), 37-47; 1990.
15. Rubiano J. y Velásquez M. Atrofia, metaplasia y cáncer gástrico: ¿dónde está la evidencia?. *Rev Colomb Cir*, 22(1), 39-46. Cali, Colombia; 2007
16. Fuentes E., Camorlinga M. y Maldonado C. Infection, inflammation and gastric cancer. *Rev. Salud Publica Mex*, 51(33) 427, México; 2009.
17. Rugge M. y Genta R. Staging and grading of chronic gastritis. *Hum Pathol*; (36), 228; 2005.
18. Jass J. y Filipe M. The mucin profiles of normal gastric mucosa, intestinal metaplasia and its variants and gastric carcinoma. *Rev. Histochem* 13(9), 931-935; 1981.
19. Sanchez J., et al. Regresión de la metaplasia intestinal gástrica tras la erradicación de la infección por *Helicobacter pylori* en un hospital de México. *Rev. Esp. Enferm. Dig.* 108 (12), 770-775; Sinaloa, México; 2016.
20. Piñol F., et al. Metaplasia intestinal en pacientes con reflujo duodenogástrico y ácidos biliares totales elevados. *Rev Cubana Med* (49), 17-32. Cuba; 2010.
21. Keda Y., et al. Histopathological differences in the development of small intestinal metaplasia between antrum and body of stomach. *Rev Pathol Res Pract*, (201), 487; 2005.
22. Mera R., et al. Long term follow up of patients treated for *Helicobacter pylori* infection. *Gut* (54), 1536. 2005.
23. Nardone G., Rocco A. y Malfertheiner P. *Helicobacter pylori* and molecular events in precancerous gastric lesions. *Aliment Pharmacol Ther* (20), 261; 2004.
24. Lahner E., et al. Long-term follow-up in atrophic body gastritis patients: atrophy and intestinal metaplasia are persistent lesions irrespective of *Helicobacter pylori* infection. *Aliment Pharmacol Ther* (22), 471; 2005.

25. Gisbert J. Tratamiento de la Infección por *Helicobacter pylori*. . IV Conferencia Española de Consenso Sobre. Rev esp gastroenterología y hepatología 39(10), España; 2016.
26. Macias E. Gastritis crónica. Geo salud (28 ago 2018), acceso 5 mar 2020, disponible en <https://www.geosalud.com/digestivo/gastritiscronica.htm>
27. Minalyan A., Gabrielyan L., Scott D., Jacobs J. y Pisegna J. The Gastric and Intestinal Microbiome: Role of Proton Pump Inhibitors. Current Gastroenterology Reports. 19(8), 42; 2017.
28. Brawner K., Kumar R., Serrano C., Ptacek T. y Lefkowitz E. *Helicobacter pylori* infection is associated with an altered gastric microbiota in children. Mucosal Immunology. 10(5), 1169-1177; 2017.
29. Ianiro G., Molina J. y Gasbarrini A. Gastric Microbiota. *Helicobacter*. 20, 68-71; 2015.
30. Jo H., et al. Analysis of Gastric Microbiota by Pyrosequencing: Minor Role of Bacteria Other Than *Helicobacter pylori* in the Gastric Carcinogenesis. *Helicobacter*. 21(5), 364-374; 2016.
31. Boldys H. et al. Even young patients with no alarm symptoms should undergo endoscopy for earlier diagnosis of gastric cancer. *Endoscopy*, 35(1), 61; 2003.
32. Breslin N., et al. Gastric cancer and other endoscopic diagnoses in patients with benign dyspepsia. *Gut*, 46(1), 93-97; 2000.
33. Tajiri H., et al. Routine endoscopy using a magnifying endoscope for gastric cancer diagnosis. *Endoscopy*, 34(10), 772; 2002.
34. García C. Actualización del diagnóstico y tratamiento del cáncer gástrico. *Rev. Med. Clin. Condes*, 24(4) 627-636; 2013.
35. Miller F. et al. Gastric cancer: radiologic staging. *Radiologic Clinics of North America*, 35(2), 331-350; 1997.
36. Fukuya T., et al. Efficacy of helical CT in T-staging of gastric cancer. *Journal of computer assisted tomography*, 21(1), 73-81; 1997.

37. Gall A., et al. Bacterial Composition of the Human Upper Gastrointestinal Tract Microbiome Is Dynamic and Associated with Genomic Instability in a Barrett's Esophagus Cohort. PLOS ONE. 10(6); 2015.
38. Riesgo J. El genoma humano. Rev. Ciencia 53(1), 6-11, México; 2002.
39. Salamanca F. Células troncales, cáncer y p53. Gac Méd Méx 145(5), 441-442. México; 2009.
40. López J. La proteína p53: proteína que inhibe el desarrollo de tumores. Infofarmacia.com (9 dic 2002), acceso 3 mar 2020, disponible en <http://www.info-farmacia.com/bioquimica/la-proteina-p53>
41. Department of Clinical Cancer Prevention, The University of Texas MD Anderson Cancer Center, Houston, TX, USA.
42. Department of Systems Biology, The University of Texas MD Anderson Cancer Center, Houston, TX, USA. 2020.
43. Cajuso T. et al. Exome sequencing reveals frequent inactivating mutations in ARID1A, ARID1B, ARID2 and ARID4A in microsatellite unstable colorectal cancer. Int. J. Cancer (135), 611–623; 2014.
44. Bray, F. et al. Global cancer statistics 2018: Globocan estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA Cancer J. Clin. 2018; 68: 394–424.
45. Ramírez A. y Sánchez R. Helicobacter pylori y cáncer gástrico. Rev. gastroenterol. 2008; 28 (3): 258-266.
46. Morgan C, Jenkins G, Ashton T. et al. Detection of p53 mutations in precancerous gastric tissue. Br J Cancer. 2003; 89: 1314–1319.
47. Bilgiç F., Gerçeker E., Boyacıoğlu SÖ., Kasap E., Demirci U., Yıldırım H., y cols. Potential role of chromatin remodeling factor genes in atrophic gastritis/gastric cancer risk. Turk J Gastroenterol. 2018; 29(4):427-435.
48. sociedad de anatomía patológica de España. 2011. Disponible en: <https://www.seap.es/>

49. Alejos Velázquez, Aragón Martínez, Cornejo Romero. Extracción y purificación de AND .2020. Disponible en: <http://www2.inecc.gob.mx/publicaciones2/libros/710/extraccion.pdf>
50. Baena Del Valle, Ramos Moreno, Gómez Alegría, Gómez Camargo. Comparación de métodos de extracción de ADN en tejidos parafinados y utilidad para amplificación por PCR. Rev. colomb. biotecnol [Internet]. 2013 Jan [cited 2020 Mar 13]; 15(1): 172-179. Available from: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-34752013000100019&lng=en.





Anexo 1 Matriz de datos

↓1 GASTRITIS CRONICA NO ATROFICA			
PACIENTE	EDAD	SEXO	HELICOBACTER P
LI810	→	25 F	POSITIVO
LI 301	↑	66 M	NEGATIVO
LH 204	↑	46 F	POSTIVO
LG 285	↑	57 F	POSITIVO
LG 894	↓	22 M	POSITIVO
LI 874	↑	57 F	NEGATIVO

2 GASTRITIS CRONICA ATROFICA METAPLASICA						
PACIENTE	EDAD	SEXO	HELICOBACTER P	ZONA DE LESION	DATOS	
LH 332	76	F	POSITIVO	EN ANTRO	METAPLASIA COMPLETA 30 %	
LI 240	69	F	NEGATIVO	ANTRO	METAPLASIA COMPLETA 65 %	
LL 476	57	F	NEGATIVO	CUERPO <ANTRO	METAPLASIA COMPLETA 70 %	
LI 432	73	F	POSITIVO	ANTRO	METAPLASIA COMPLETA 15 %	
LH 724	69	F	NEGATIVO	CUERPO <ANTRO	METAPLASIA COMPLETA 3 %	
LG 896	55	M	NEGATIVO	ANTRO	METAPLASIA COMPLETA 10 %	

3 GASTRITIS CRONICA ATROFICA METAPLASICA CON DISPLASIA						
PACIENTE	EDAD	SEXO	HELICOBACTER P	ZONA DE LESION	DATOS	
LK 692	74	M	NEGATIVO	ANTRO	DISPLASIA DE BAJO GRADO	
LI 159	63	F	NEGATIVO	ANTRO Y CUERPO	BAJO GRADO	
LL 305	44	M	NEGATIVO	ANTRO	BAJO GRADO	
LL 052	66	F	NEGATIVO	ANTRO	BAJO GRADO	
LK 502	56	F	POSITIVO	CUERPO	BAJO GRADO	
LI 315	69	M	NEGATIVO	ANTRO Y CUERPO	BAJO GRADO	
LI 362	56	F	POSITIVO	ANTRO	BAJO GRADO	

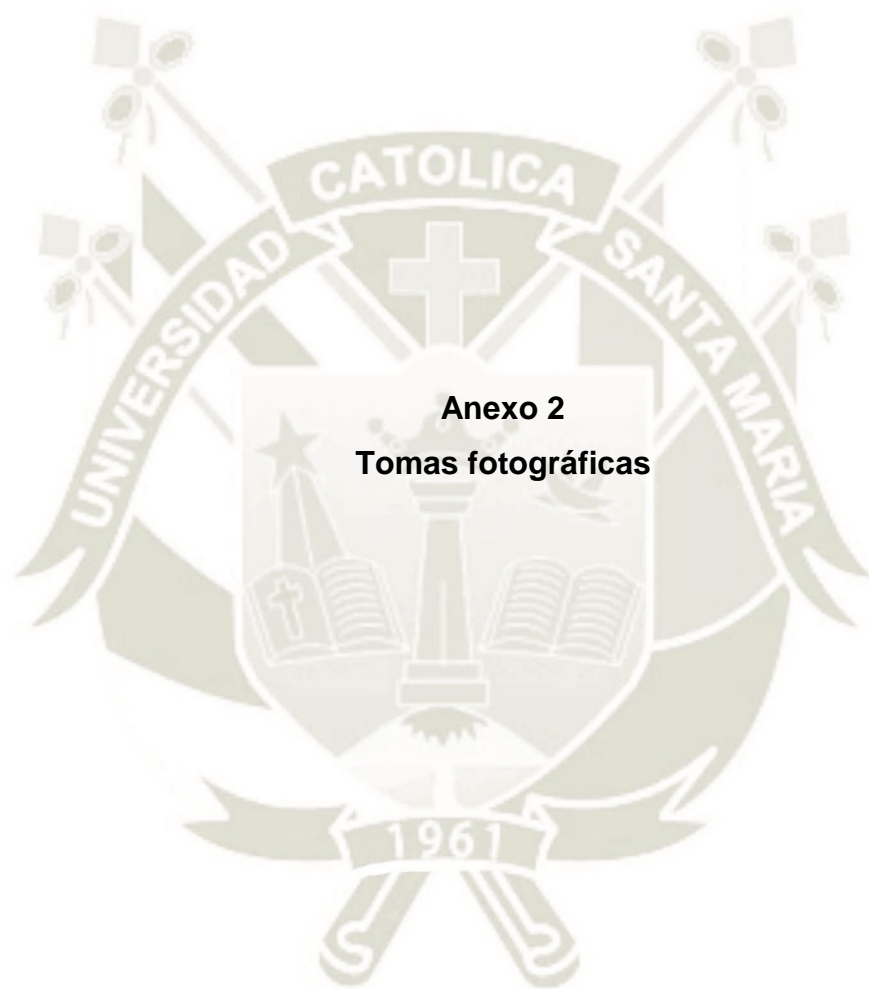




Foto 1. Se observa como se extrae tejido de tacos de parafina, las muestras obtenidas fueron de 2 a 3 mm de tamaño.

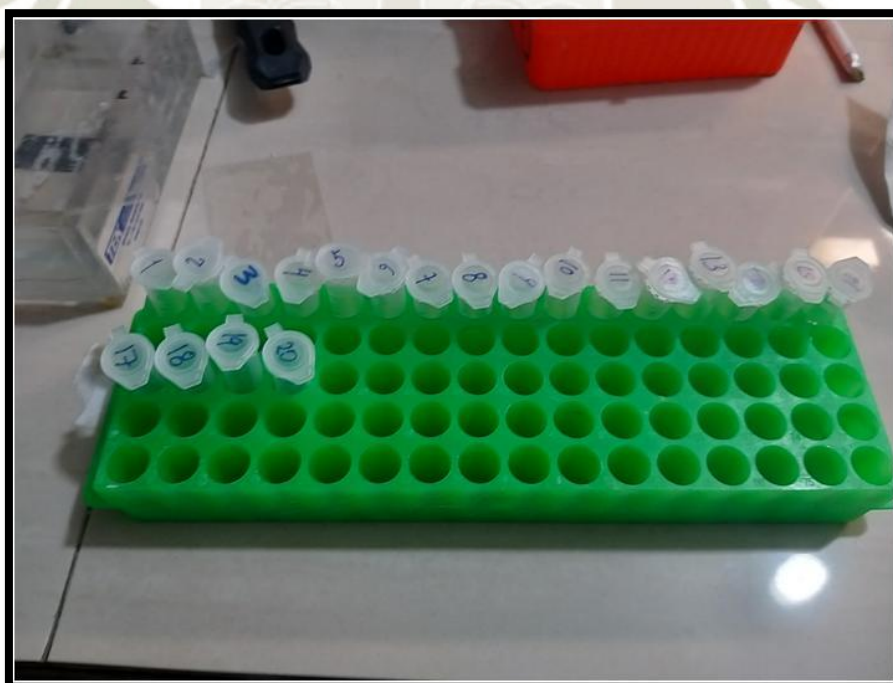


Foto 2. Tubos de eppendorf rotulados con tejido extraído de los tacos de parafina, para el proceso de extracción de ADN



Foto 3. Deshidratación/volatilización de las muestras posteriores Al desparafinado con XILOL y lavado con etanol.

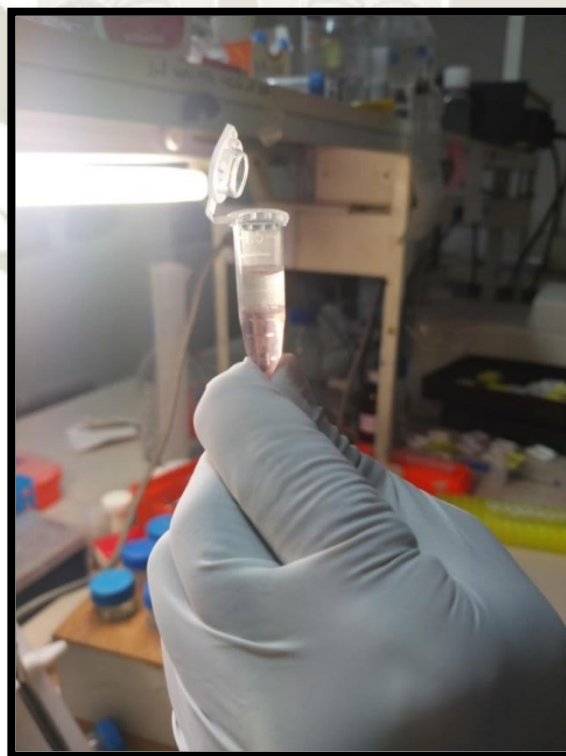


Foto 4. Fase acuosa del proceso de extracción del ADN



Foto 5. Se obtuvo el “pele” en el proceso de extracción del ADN

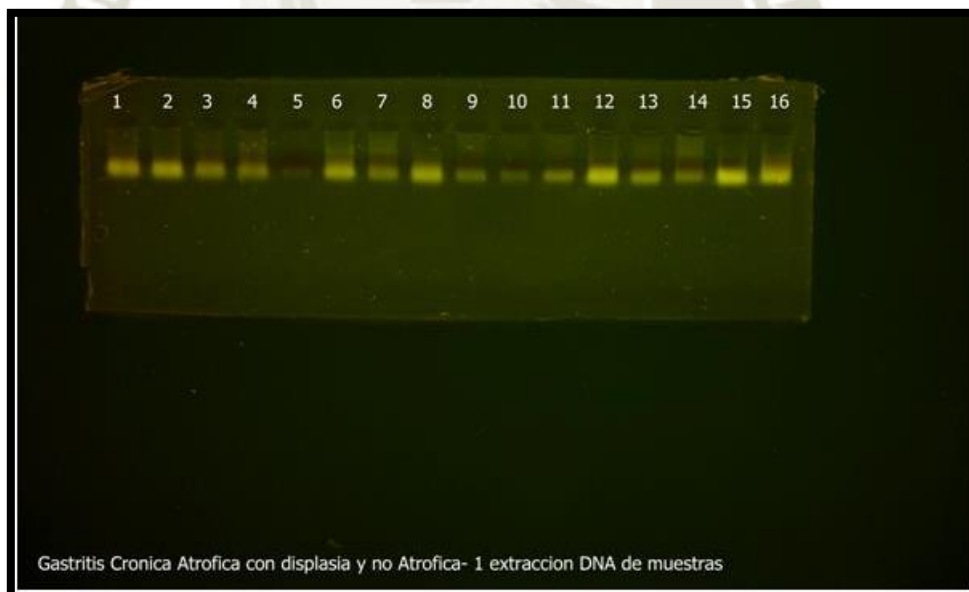


Foto 6. Electroforesis de 20 muestras que mostraron pele. 1RA EXTRACCIÓN. Se obtuvo bandas muy fuertes que corresponde al ARN y bandas ligeramente débiles de ADN.

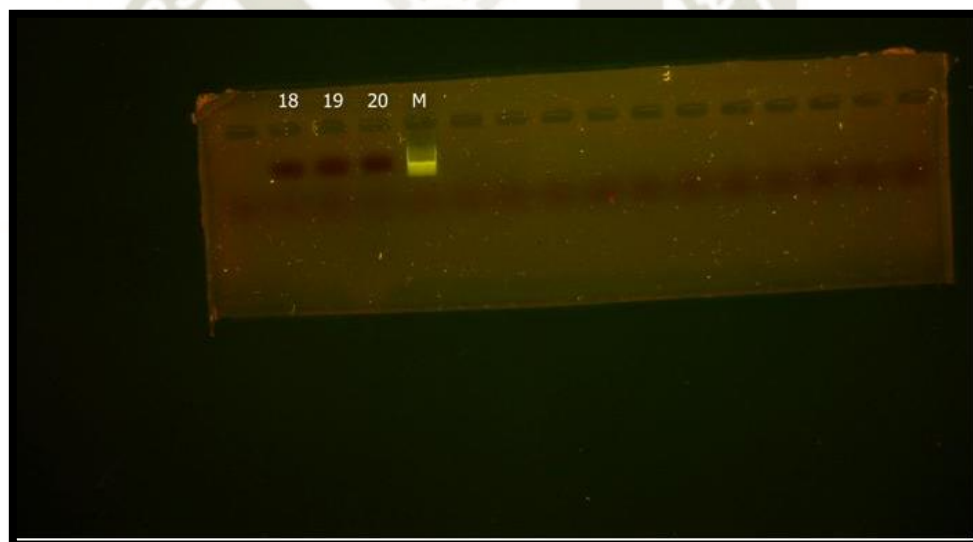
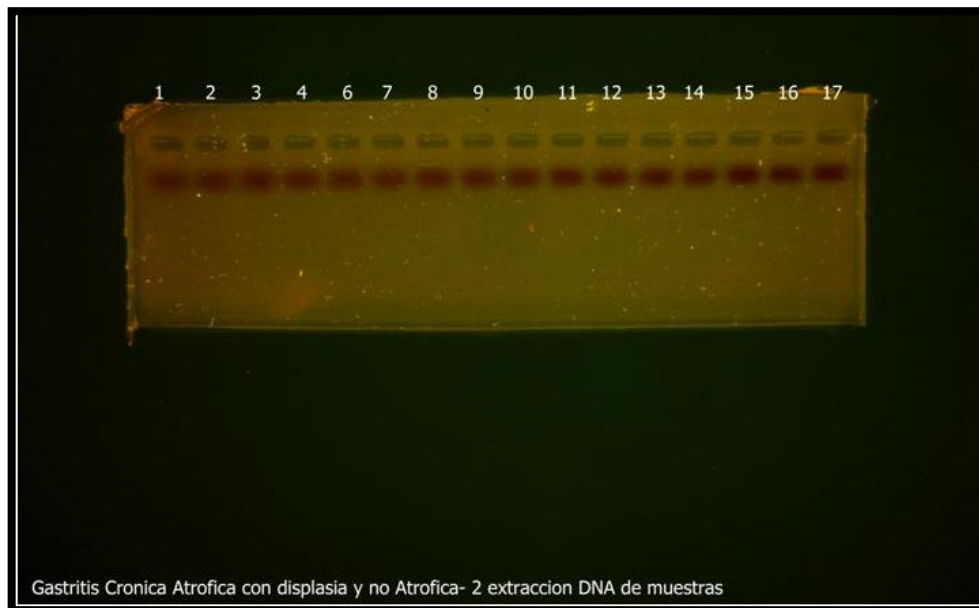
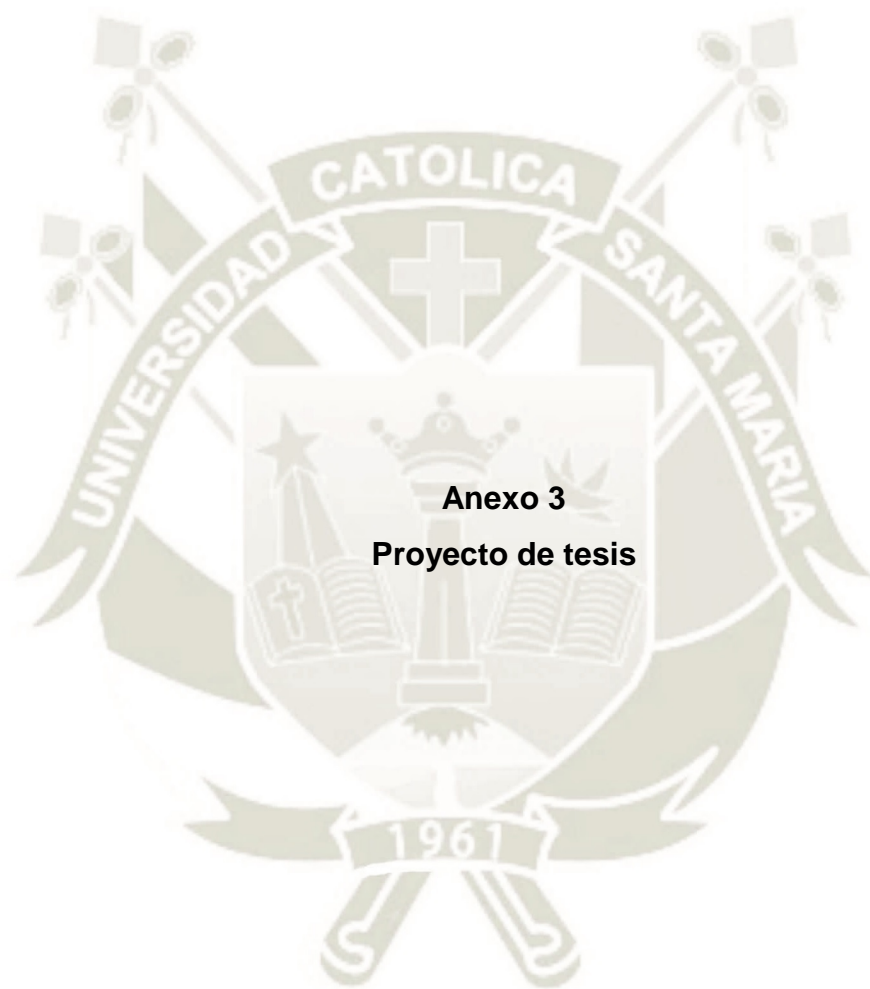


Foto 7. 2DA EXTRACCIÓN, se agregó RNA asa y se obtuvieron bandas muy débiles.



Universidad Católica de Santa María
Facultad de Medicina Humana
Escuela Profesional de Medicina Humana



**DIFERENCIAS EN LAS MUTACIONES DE LOS GENES P53 Y ARID1A
EN PACIENTES ADULTOS CON ESTADIOS PRE NEOPLÁSICOS
GÁSTRICOS SEGÚN PELAYO CORREA**

Proyecto de Tesis presentado por la
Bachiller:

Navarro Ochoa, Pamela Kelly

para optar el Título Profesional de:

Médico Cirujana

Asesor:

Dr. Bernabé Ortiz, Julio César

Arequipa – Perú

2020

1. PREÁMBULO

El cáncer gástrico sigue siendo uno de los cánceres más comunes y mortales en todo el mundo, la base de datos de GLOBOCAN 2018 estimó que el cáncer de estómago es la 5^{ta} neoplasia más frecuente y el 3^{er} cáncer más mortal, con un estimado de 783.000 muertes en 2018, esta incidencia y mortalidad son muy variables según la región y depende en gran medida de la dieta y la infección por la bacteria *Helicobacter pylori*, además de la herencia y la genética.

Clásicamente, el cáncer gástrico se puede dividir en dos subtipos histológicos: difuso o intestinal. Se cree que el tipo intestinal surge de una secuencia de gastritis, metaplasia intestinal y niveles crecientes de displasia. Un sello distintivo de la metaplasia es un cambio en la identidad celular, y este proceso puede ser regulado por factores genéticos que inician y / o mantienen la identidad celular.

La infección crónica con cepas *Helicobacter pylori* es el factor de riesgo más fuertemente relacionado, sin embargo la mitad de pacientes con gastritis son negativos para la infección de H.Pylori y la abundancia de esta bacteria disminuye en pacientes con cáncer.

Para explorar la base genética del cáncer gástrico que se desarrolla en la mucosa gástrica inflamada existen nuevas investigaciones de las aberraciones genéticas.

El gen p53 es el gen supresor de tumores inactivado más frecuentemente identificado en cánceres humanos hasta la fecha, las mutaciones de este gen parecen ser factores claves en el desarrollo del cáncer gástrico. Otro gen ARID1A encargado de la remodelación de la cromatina, proceso que ha sido descrito también como uno de los mecanismos involucrados en la carcinogénesis de cáncer gástrico.

Ambos genes tendrían un valor como biomarcadores de carcinogénesis gástrica que podrían conducir a una mejor prevención o detección temprana de la displasia y el cáncer.

Actualmente existe controversia con respecto a la etapa en la cual ocurren estas alteraciones en el genoma dentro de la secuencia metaplasia – displasia.

Por lo que aún queda mucho por hacer para abordar el aumento alarmante de la carga de cáncer gástrico a nivel nacional y que la prevención y detección temprana tienen un papel clave que desempeñar por lo que se requieren más estudios para ofrecer una información más detallada de estas bases genéticas en el desarrollo de cáncer. Es por esto, que el objetivo de este trabajo es analizar molecularmente mutaciones del genoma humano gástrico en pacientes con lesiones precancerosas y poder aplicar estos descubrimientos para detección temprana de esta patología.

2. PLANTEAMIENTO TEÓRICO

2.1. Problema de Investigación

2.1.1. Enunciado del problema

Diferencias en las mutaciones de los genes P53 y ARID1A en pacientes adultos con estadios pre neoplásicos gástricos según Pelayo Correa

2.1.2. Descripción del problema

2.1.2.1. Área del conocimiento

2.1.2.1.1. Área general: Ciencias de la Salud

2.1.2.1.2. Área Específica: Medicina Humana

2.1.2.1.3. Especialidad: Biología y genética humana

2.1.2.1.4. Línea: Gastritis

2.1.2.2. Análisis u operacionalización de variables e indicadores

VARIABLE	INDICADOR	UNIDAD /CATEGORÍA	ESCALA
Variable independiente			
Gastritis Crónica	Diagnóstico histopatológico	<ul style="list-style-type: none"> • GASTRITIS CRÓNICA NO ATRÓFICA H. Pylori: negativo /positivo • GASTRITIS CRÓNICA ATRÓFICA SIN METAPLASIA: H. Pylori: negativo /positivo • GASTRITIS CRÓNICA ATRÓFICA CON METAPLASIA: H. Pylori: negativo /positivo • GASTRITIS CRÓNICA ATRÓFICA METAPLÁSICA CON DISPLASIA: H. Pylori: negativo /positivo 	Nominal
Variable dependiente			
Genoma humano gástrico	Tipificación de mutaciones genómicas en ADN	<ul style="list-style-type: none"> • GEN P53 • GEN ARID1A 	Nominal
	Frecuencia de mutación	%	De razón
Variabes intervinientes			
Sexo	Caracteres sexuales secundarios	Masculino /femenino	Nominal
Edad	Fecha de Nacimiento	Años	De razón

2.1.2.3. Interrogantes básicas

- a) ¿Cuáles son las mutaciones del gen p53 y ARID1A en pacientes con gastritis crónica no atrófica, atrófica y con displasia?
- b) ¿Cuál es la prevalencia de las mutaciones de los genes P53 y ARID1A presentes en pacientes con las patologías gástricas de estudio?
- c) ¿Existe diferencia entre las mutaciones genéticas de pacientes negativos y positivos a H. pylori?
- d) ¿Existe diferencia entre las mutaciones genéticas de pacientes masculinos y femeninos?

2.1.2.4. Tipo de investigación

Se trata de una investigación básica.

2.1.2.5. Diseño de investigación

Experimental, prospectivo y transversal.

2.1.2.6. Nivel de investigación

Nivel exploratorio

2.2. Justificación del problema:

2.2.1. Justificación científica:

El presente trabajo de investigación pretende contribuir al conocimiento de la presencia de mutaciones genómicas del gen P53 Y ARID1A, de esta forma plantear su valor como biomarcadores de carcinogénesis gástrica que podrían conducir a una mejor prevención o detección temprana de la displasia y el cáncer, teniendo en cuenta que tiene una elevada casuística en nuestro medio.

2.2.2. Justificación social:

El gen p53 es el gen supresor de tumores inactivado más frecuentemente identificado en cánceres humanos hasta la fecha al igual que se ha descrito mutaciones en el gen ARID1A en su papel en el desarrollo de cáncer gástrico. Estas mutaciones genómicas seguramente tendrán un valor importante como biomarcadores en nuestra lucha para enfrentar los retos mayores de la sociedad como son el cuidado de la salud.

2.2.3. Factibilidad:

La identificación de las mutaciones genómicas presentes en el estómago es factible porque ayudaría a conocer más sobre su papel en el desarrollo de distintas enfermedades gástricas.

2.2.4. Justificación personal:

Habiendo antecedentes de escasos estudios realizados a nivel nacional en este ámbito, generó un estímulo personal de conocer más sobre alteraciones genéticas en la mucosa gástrica, es que me inclino a realizar esta investigación.

2.3. Marco Conceptual

2.3.1. Gastritis

2.3.1.1. Definición

Gastritis es una enfermedad inflamatoria aguda o crónica de la mucosa gástrica que es producida por factores exógenos y endógenos lo cual genera síntomas dispépticos atribuibles a la enfermedad y cuya existencia se sospecha clínicamente (1). Estrictamente hablando gastritis se refiere a los hallazgos histológicos de la mucosa gástrica inflamada y se observa endoscópicamente.

La gastritis es un trastorno inflamatorio crónico de la mucosa gástrica y duodenal, llamada también úlcera péptica, lesión profunda de la mucosa que penetra en la muscularis mucosae mientras que la erosión es más superficial y no afecta a la muscularis (2).

Para la doctora Ramos el término gastritis es con frecuencia, utilizado de forma indebida, la gastritis debe referirse exclusivamente a criterios histológicos, en razón a ello debe definirse como la aparición de un infiltrado inflamatorio en la mucosa gástrica, por extensión, muchas veces engloba trastornos gástricos que cursan con lesión de la mucosa de índole no inflamatoria y que, siendo estrictos en la nomenclatura, deben ser englobados dentro del concepto de gastropatía (3).

2.3.1.2. Epidemiología

La infección por *H. pylori* está ampliamente extendida, aproximadamente afecta al 50% de la población mundial, aunque puede llegar al 80% en países en vías de desarrollo. El hombre es el reservorio natural de esta bacteria y la transmisión se produce de persona a persona (fecal-oral, gastro-oral u oral-oral) (3).

La gastritis es una enfermedad de elevada morbilidad a nivel mundial, su incidencia varía en las diferentes regiones y países. En el Perú, es una de las causas que con más frecuencia motivan la consulta gastroenterológica. Al evaluar panorámicamente los informes efectuados desde hace dos décadas hasta la actualidad, se evidencia que las características epidemiológicas de la infección por *H. pylori* en el Perú están cambiando considerablemente, en forma similar a lo reportado en el resto del mundo (1).

Se ha determinado una igual prevalencia de la infección en las tres regiones del Perú (costa, sierra y selva), en pacientes de nivel socioeconómico bajo. En pacientes de nivel socioeconómico alto, la prevalencia es menor en el sexo femenino. A diferencia de lo que sucede en los países industrializados, en el Perú la infección se adquiere en edades muy tempranas de la vida (5).

2.3.1.3. Etiología

La gastritis es etiológicamente multifactorial, observándose que en un solo paciente pueden intervenir múltiples factores tanto exógenos como endógenos, de los que el más común es la infección por *Helicobacter pylori*. Factores exógenos: *Helicobacter pylori* y otras infecciones, AINES, irritantes gástricos, drogas, alcohol, tabaco, cáusticos y radiación. Factores endógenos: Acido gástrico y pepsina, Bilis, Jugo pancreático, Urea (Uremia) e Inmunes (5).

H. pylori es un patógeno gástrico que infecta crónicamente a más de la mitad de la población mundial, con una prevalencia del 30% en países desarrollados y cerca del 90% en países en desarrollo. La infección por *H. pylori* se asocia con la patogénesis de la gastritis, la úlcera péptica y el cáncer gástrico⁶. La escala mundial, tiene gran incidencia y prevalencia; de 20-50 % en adultos de países desarrollados y hasta 90% en países subdesarrollados. Alrededor de 10% desarrollará una úlcera péptica y menos de 1%, cáncer gástrico (adenocarcinoma o linfoma gástrico) (7).

2.3.1.4. Patogenia

El daño de la mucosa gástrica depende del tiempo de permanencia del factor o factores injuriantes, jugando un rol importante la capacidad que tiene la mucosa gástrica a través de la denominada barrera gástrica para resistir a estos factores o a los efectos deletéreos de sus propias secreciones. La barrera gástrica está constituida por componentes pre epiteliales, epiteliales y sub epiteliales. En los componentes pre epiteliales se encuentran la barrera de moco, el bicarbonato y los fosfolípidos, estos últimos aumentan la hidrofobicidad superficial de la membrana celular e incrementan la viscosidad del moco. En los componentes epiteliales se encuentran la capacidad de restitución del epitelio por las células existentes a nivel de la región lesionada, la resistencia celular con una gradiente eléctrica que previene la acidificación celular, los transportadores acidobásicos que transportan el bicarbonato hacia el moco y a los tejidos subepiteliales y extraen el ácido de estos sitios, los factores de crecimiento epitelial, las prostaglandinas y el óxido nítrico. En los componentes subepiteliales se encuentran, el flujo sanguíneo que descarga nutrientes y bicarbonato en el epitelio, y la adherencia y extravasación de los leucocitos, que inducen lesión hística y quedan suprimidos por las prostaglandinas endógenas. El trastorno de uno o más de estos componentes defensivos por factores etiológicos de la gastritis originan la lesión de la mucosa permitiendo la acción del ácido, proteasas y ácidos biliares en mayor o menor grado y que pueden llegar hasta la lámina propia, sitio en el que producen lesión vascular, estimulan las terminaciones nerviosas y activan la descarga de histamina y de otros mediadores (1).

Dentro de los factores agresivos o citotóxicos están el ácido clorhídrico, la pepsina, medicamentos como la aspirina y los antiinflamatorios no esteroideos (AINES), los ácidos biliares y el *Helicobacter pylori* (*H. pylori*). Los mecanismos citoprotectores encontramos la capa de moco, que protege a las células epiteliales del ácido clorhídrico y de la pepsina, y la secreción de bicarbonato que da lugar a una disminución de la acidez bajo la capa de

moco, proporcionando una protección adicional a las células epiteliales. Las prostaglandinas defienden la mucosa inhibiendo directamente la secreción ácida a nivel de las células parietales, aumentando la producción de bicarbonato y moco y mejorando el flujo sanguíneo de la mucosa (2).

El ácido clorhídrico se produce en las células parietales u oxínticas del cuerpo y fundus gástrico como respuesta a una serie de estímulos. Durante la fase cefálica de la digestión se estimula el vago que libera acetilcolina; durante la fase gástrica, la distensión del estómago por el bolo alimenticio, el aumento del pH >3 y ciertos aminoácidos producto del inicio de la digestión de las proteínas hacen que se libere gastrina por parte de las células G del antro y acetilcolina y, finalmente, durante la fase intestinal, la digestión proteica en curso libera gastrina (2).

Al mismo tiempo, la gastrina y la acetilcolina estimulan las células enterocromafin-like de la lámina propia para que produzcan histamina en zonas próximas a las células parietales, favoreciendo así la producción de ácido mediante un mecanismo paracrino. La vía final común de la producción de ácido en la célula parietal, independientemente de cual haya sido el estímulo, es la bomba de protones (H^+/K^+ ATPasa). Dicho enzima cataliza el bombeo de hidrogeniones fuera del citoplasma hacia la luz del canalículo secretorio a cambio de iones potasio. La salida de hidrogeniones permite que se acumule en la célula iones hidroxilo que, mediante la acción de la anhidrasa carbónica, se transfiguran en bicarbonato; éste pasa al torrente sanguíneo, así como se representa en la figura continua (2).

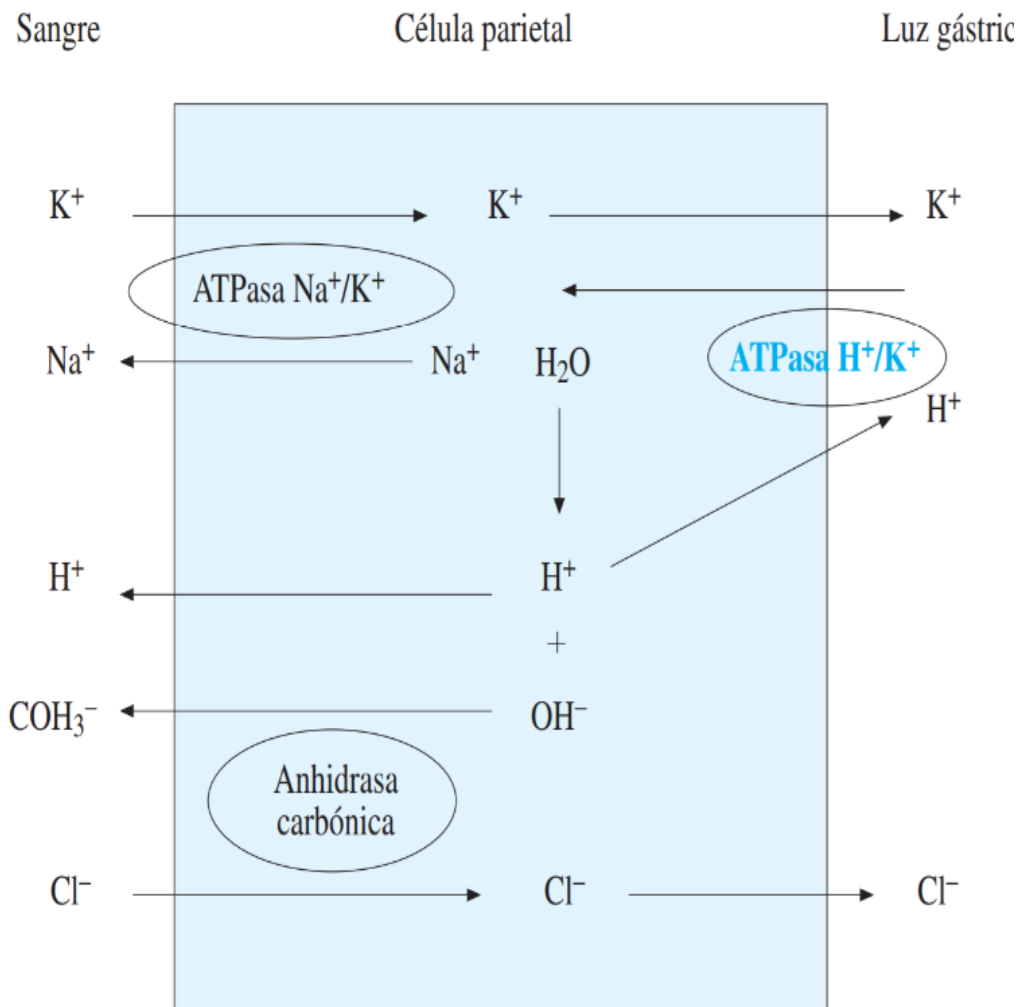


Figura 1. Mecanismos de producción de ácido: procesos de transporte. SEGHP-AEP 2010.

2.3.1.5. Clasificación

La mayoría de los sistemas de clasificación distinguen gastritis aguda (gastritis a corto plazo) y gastritis crónica (gastritis a largo plazo). Los términos agudo y crónico también son usados para describir el tipo de infiltrado inflamatorio. El infiltrado inflamatorio agudo típicamente es caracterizado por neutrófilos y el infiltrado inflamatorio crónico por células mononucleares (8).

Existen diversas clasificaciones de las gastritis y gastropatías, basadas en criterios clínicos, factores etiológicos, endoscópicos o patológicos, no

existiendo una clasificación totalmente aceptada. Entre las clasificaciones actuales de mayor uso están:

- Clasificación Anatomopatológica basada en su presentación, prevalencia y etiología.
- Clasificación actualizada de Sydney basada en hallazgos endoscópicos, histológicos, etiológicos, topográficos y grado de daño.
- Clasificación basada en criterios etiológicos, endoscópicos y patológicos (1).

2.3.1.5.1. Clasificación actualizada de Sydney basada en hallazgos endoscópicos, histológicos, etiológicos, topográficos y grado de daño

En 1990, con el fin de liquidar confusiones diagnósticas, se reunió en Sydney (Australia) un grupo de trabajo para precisar algunas guías para la clasificación y gradación de la gastritis crónica. De esta reunión de trabajo resultó el llamado “Sistema Sydney”, el cual hace circunspecciones endoscópicas e histológicas y recomienda que el diagnóstico de gastritis sea hecho por una integración de información etiológica, histológica y endoscópica. Sugiere que sean usadas las mismas categorías de gradación (leve, moderado y severo), tanto para la histología como para las variables endoscópicas (9).

Para el año 1994, se efectuó una segunda reunión en Houston, en la cual se mejoró la terminología de la clasificación y se enfatizó la importancia de distinguir entre estómagos atróficos y no atróficos, considerando que los nombres utilizados para cada entidad fueran aceptados por patólogos y endoscopistas (10).

El hallazgo del *H. pylori* trastornó los conceptos de etiología y se ha inculcado a esta bacteria de ser la causa principal de gastritis crónica no autoinmune. Amparados en las anteriores consideraciones, los autores se propusieron utilizar el Sistema Sydney en el diagnóstico de los diferentes tipos de gastritis crónica (11).

Tabla 1. Clasificación de gastritis crónica basada en la topografía, morfología y etiología

Tipo de gastritis		Factores etiológicos	Sinónimos
GC No atrófica		H. pylori Otros factores	Superficial, GDA (gastritis difusa antral), GCA (gastritis crónica antral).
GC Atrófica	Autoinmune	Autoinmunidad	Tipo A Corporal difusa Asoc. anemia perniciosa
	Multifocal	H. pylori	Tipo B Tipo AB Ambiental metoplásica

Fuente: Valdivia M. 2011.

Se ha descrito una sucesión evolutiva de lesiones preneoplásicas (gastritis atrófica, metaplasia intestinal, displasia) desde la infección por H. pylori y el desarrollo del cáncer gástrico (12).

La cascada de Correa define una clasificación de la gastritis, llamada también la secuencia o progresión fisiopatológica desde la gastritis aguda hasta el adenocarcinoma gástrico. Esta incluye:

Gastritis aguda (GA), gastritis crónica (GC), gastritis crónica atrófica (GCA), metaplasia intestinal (GCAm), displasia de bajo y alto grado y adenocarcinoma gástrico (13).

Según Correa, teoría que por cierto fue aceptada mundialmente, el cáncer gástrico de tipo intestinal surge de un proceso que se inicia como gastritis crónica, gastritis crónica atrófica, metaplasia intestinal (madura o inmadura) y finalmente displasia (leve, moderada o severa). Todo este proceso toma, en teoría, entre ocho y diez años, aunque permanece sin aclararse si la metaplasia intestinal es un proceso premaligno o un factor de riesgo para la aparición del cáncer (14).

Para un cirujano que atiende pacientes con sintomatología gástrica, es esencial saber la forma de evaluar clínicamente, brindar tratamiento y sobre todo hacer seguimiento cuando la endoscopia digestiva superior reporta atrofia/metaplasia intestinal, es imperante contar con un

esquema gráfico del problema para concebir mejor los estudios y los resultados de los mismos, en la figura 2, fundamentada en la teoría de Correa Pelayo, se muestra la pirámide poblacional del problema, encontrando cómo gran parte de la población general presenta gastritis crónica, pero el proceso sólo progresa en grupos cada vez menores hasta lograr en cáncer en una pequeña minoría y en un promedio de tiempo entre ocho y diez años, en la medida que persiste o se agregan nuevos factores de riesgo (15).



Figura 2. Pirámide poblacional de riesgo del cáncer gástrico.
Fuente: Correa, 2008

- **Gastritis Crónica Atrófica**

La gastritis atrófica es la lesión precancerosa inicial y se caracteriza por la muerte de las células parietales, con pérdida del epitelio glandular que recubre la mucosa del estómago (16).

El *H. pylori* es la principal causa de GCA, con asociación cercana al 100%. La GCA se considera una lesión preneoplásica, a medida que la GA y la MI avanzan en extensión y severidad, la tasa de detección de *H. pylori* disminuye; de esta manera la infección por *H. pylori* es un factor de riesgo para que se establezca la GA, actuando como gatillo. La prevalencia de GA aumenta con la edad y progresa de antro a cuerpo con la misma; por ende la edad avanzada sería un factor de riesgo para atrofia y°displasia (13).

La gastritis crónica atrófica GCA, se considera el primer paso en la histogénesis del cáncer gástrico, generalmente la gastritis atrófica se asocia con hiposecreción ácida y bajos niveles de pepsinógeno, lo cual permite la colonización de otras bacterias y la formación de agentes carcinogénicos (17).

- **Gastritis atrófica metaplásica**

La metaplasia intestinal es el reemplazo del epitelio glandular y/o foveolar por epitelio intestinal y se caracteriza por su similitud morfológica a los enterocitos (18).

Se dan numerosas clasificaciones de la metaplasia intestinal, no habiendo una clasificación universalmente aceptada¹⁹. Estudios histopatológicos e histoquímicos muestran una identificación de dos tipos de metaplasia: el tipo I o completa, que se caracteriza por la presencia de células de absorción no secretorias con bordes en cepillo bien delineados, células de Paneth, y células que secretan sialomucinas y que corresponde a un fenotipo de intestino delgado; y el tipo II o incompleta o colónica, que incluye tipo IIA y IIB, que se

caracterizan por la presencia de células columnares y células que secretan sialomucinas (tipo IIA) y sulfomucinas (tipo IIB) (18).

La metaplasia intestinal está asociada a la infección por *H. pylori* y el reflujo biliar, aunque el *H. pylori* está implicado como la principal causa de metaplasia (20). Algunos estudios han demostrado como factores de riesgo para presentar metaplasia intestinal la edad ≥ 61 años, la infección por *H. pylori*, la ingesta de alimentos picantes, antecedentes de tabaquismo, así como el sexo masculino, antecedentes de familiares con cáncer gástrico, educación por debajo del nivel universitario, consumo de productos lácteos, causas dietéticas como la ingesta excesiva de sal, ácido ascórbico deficiente, e insuficiente ingesta de caroteno. Sin embargo, entre los muchos factores de riesgo, la infección por *H. pylori* es considerada como el factor de riesgo más importante de la metaplasia intestinal (19).

La metaplasia intestinal es un proceso en el cual la mucosa gástrica se suple por un epitelio que histológicamente recuerda la mucosa intestinal y que con frecuencia se asocia con gastritis crónica atrófica (21). La metaplasia intestinal no siempre es objetivamente clasificada por los métodos de hematoxilina-eosina; por ello, se ha manejado muchos métodos de inmunohistoquímica, permitiendo clasificar de manera más objetiva la naturaleza epitelial de las células en el tracto gastrointestinal; aún así, persiste la teoría de que hay una relación entre el cáncer gástrico y el tipo de metaplasia intestinal, por lo cual se desarrolló un sistema de clasificación que permitiera diferenciar los tipos de metaplasia (22).

- **Metaplasia intestinal completa**

- Tipo I. Células caliciformes secretoras de sialomucina y células absorptivas no secretoras (15).

- **Metaplasia intestinal incompleta**

Tipo II. Pocas células absortivas, células columnares secretoras de sialomucina ácida y neutra, células caliciformes secretoras principalmente de sialomucina y ocasionalmente sulfomucina (15).

- **Metaplasia intestinal pseudopilonica**

Tipo III. Células columnares secretoras principalmente de sulfomucina y células caliciformes secretoras de sialomucina y sulfomucina (15).

- **Gastritis atrófica displásica**

La displasia es el siguiente paso en la cascada de carcinogénesis gástrica y de acuerdo con la definición de la OMS se considera como neoplasia gástrica no invasiva y entre mayor sea el grado de displasia mayor es el riesgo de cáncer gástrico (23). Sin embargo, algunos trabajos demostraron que la displasia de bajo grado rara vez progresa a displasia de alto grado y que hasta en 50% de los casos esta lesión regresa espontáneamente (24).

2.3.1.6. Diagnóstico

Para el diagnóstico de gastritis no existe una buena correlación de las manifestaciones clínicas, los hallazgos endoscópicos e histológicos, ya que es posible encontrar en ocasiones severas gastritis en individuos asintomáticos o mucosas gástricas normales en pacientes con síntomas acentuados atribuibles a gastritis (25).

- Hallazgos endoscópicos: Los signos endoscópicos asociados a esta entidad incluyen edema, eritema, mucosa hemorrágica, punteados hemorrágicos, friabilidad, exudados, erosiones, nodularidad, pliegues hiperplásicos, presencia de signos de atrofia de la mucosa dada por visualización de vasos submucosos con aplanamiento o pérdida de los

pliegues acompañados o no de placas blanquecinas que corresponden a áreas de metaplasma intestinal. Estos signos endoscópicos pueden localizarse topográficamente a nivel del antro, cuerpo o en todo el estómago, denominándose gastritis antrales, gastritis corporal o pangastritis respectivamente (25).

- Hallazgos histológicos: No se debe abusar del diagnóstico de gastritis, por lo que se requiere realizar la biopsia para confirmación histológica, establecer la presencia o ausencia de *Helicobacter pylori* o de otras formas de gastritis específicas (25).
- Exámenes de laboratorio: Las pruebas de laboratorio pueden usarse para determinar algunas causas de gastritis, como en el caso del *Helicobacter pylori* a través de métodos invasivos como la endoscopia y biopsias para el estudio histológico, realizar la técnica de la ureasa rápida, el cultivo y o el empleo de métodos no invasivos como la serológica para Ig G, la detección de antígeno en las deposición, y la prueba del aliento del C13 o C14 espirado (25).

El diagnóstico diferencial se debe realizar con la úlcera duodenal, hernia de hiato, litiasis biliar, pancreatitis crónica y el síndrome de intestino irritable. La gastroscopia permite observar la mucosa gástrica sugiriendo el diagnóstico de gastritis pero no existe correlación de los signos endoscópicos con las lesiones histológicas. Así mismo permite descartar otras posibilidades diagnósticas. El diagnóstico de certeza es con el estudio histológico de la biopsia obtenida por endoscopia. El diagnóstico histológico de gastritis crónica no se correlaciona de manera segura con los síntomas por lo que el médico debe considerar otros mecanismos fisiopatológicos. La presencia de *Helicobacter pylori* se puede investigar con otros métodos como determinación de anticuerpos anti- *Helicobacter pylori*, prueba de aliento con urea marcada, test rápido de la ureasa y cultivo microbiológico en una muestra de biopsia. En las gastritis crónicas con atrofia gástrica conviene realizar un estudio del jugo gástrico y determinar la gastrina sérica (26).

2.3.2. Cáncer gástrico

2.3.2.1. Definición

El cáncer gástrico ha sido por muchos años una de las principales causas de mortalidad por neoplasias en el mundo entero. A pesar que en países occidentales se ha observado una importante disminución de la incidencia de la enfermedad, aún constituye una causa relevante en cuanto al número de muertes. El cáncer gástrico es el segundo cáncer más frecuente del mundo, superado solamente por el cáncer de pulmón (27). Posee una alta mortalidad y una variación geográfica significativa (28). A nivel global la incidencia de esta neoplasia está disminuyendo, hecho más marcado en países occidentales, por razones desconocidas (29). La variación geográfica es una característica del cáncer gástrico. Los países con más altas tasas ajustadas de mortalidad son: Bulgaria, Colombia, Costa Rica, Chile, China, Islandia, Japón, Portugal y algunos países de la ex URSS. Por el contrario, en países como EE.UU., India, Filipinas y la mayoría de los países africanos esta neoplasia es poco relevante (30).

2.3.2.2. Cuadro Clínico

El cáncer gástrico tiende a manifestarse con síntomas leves e inespecíficos en sus inicios, por lo cual rara vez son causa de consulta médica. El cáncer gástrico incipiente (aquella lesión que compromete la mucosa o submucosa) es asintomático el 80% de los casos, y en el 20% restante aparecen síntomas inespecíficos similares a un síndrome ulceroso y ocasionalmente náuseas, anorexia o saciedad precoz (31).

En el cáncer gástrico avanzado, la sintomatología es más florida siendo frecuentes el dolor abdominal y la baja de peso (60% de los casos). También suelen presentar anorexia, náuseas, vómitos, anemia, disfagia, hemorragia digestiva y saciedad precoz. La anemia de causa no aparente en un adulto, debe obligar a realizar endoscopía digestiva alta y baja para descartar/confirmar tumores digestivos (32).

2.3.2.3. Diagnóstico y seguimiento

El diagnóstico se realiza mediante una endoscopia digestiva alta y la biopsia (33). La endoscopia además de visualizar la lesión, determina su forma macroscópica, tamaño, localización y en ojos experimentados una estimación de la profundidad. Desde el punto de vista macroscópico el cáncer gástrico se clasifica en lesiones incipientes y avanzadas. Esta clasificación propuesta en la década del 60 por la asociación japonesa para el estudio del cáncer gástrico, persiste hasta nuestros días y se utiliza en la práctica habitual del manejo de estos pacientes. Tiene un significado pronóstico y determina en la mayoría de los casos la conducta a seguir (34). Además de la endoscopia, se cuenta con la radiología con doble contraste, que permite, al igual que la endoscopia, determinar la forma macroscópica, el tamaño y localización de la lesión. Es sin lugar a dudas una buena herramienta para el cirujano puesto que agrega una visión más panorámica de la característica de la lesión y de los límites proximal y distal (35).

Una vez diagnosticada la lesión, se debe proceder al estudio de diseminación. Se considera como estudio mínimo para este paso la tomografía axial computada de abdomen y pelvis, que básicamente está orientada a precisar la existencia de metástasis linfonodales, hepáticas y peritoneales, esta última con mayor rango de error (36).

2.3.2.4. Tratamiento

El mejor conocimiento de la biología tumoral del cáncer gástrico ha permitido que el tratamiento actual se haya definido como individualizado, multidisciplinario y multimodal. Individualizado significa aplicar la mejor terapia que asegure curación de la enfermedad con la menor invasión posible, destacando en este punto la irrupción de la endoscopia como arma terapéutica y la laparoscopia. Sin embargo, la cirugía radical sigue siendo el pilar fundamental del tratamiento del cáncer gástrico avanzado (37).

2.3.3. Genoma humano

2.3.3.1. Definición

Es una especie de vademécum, de enciclopedia de toda la información genética que poseemos como especie. Estos textos están escritos en un idioma: el idioma de los genes, y tienen su sustrato físico en una sustancia química: el ADN. El sustrato físico equivaldría al papel y a la tinta de los libros y de los textos. El ADN es una molécula muy larga y delgada formada por dos hebras o ejes entrelazados que forman una doble hélice. Estas hebras están formadas por subunidades repetidas de manera lineal, llamadas nucleótidos, constituidos a su vez por tres partes: una base nitrogenada, un azúcar de cinco carbonos, llamado desoxirribosa, y un grupo fosfato. Las bases nitrogenadas pueden ser de dos clases, purinas y pirimidinas, de acuerdo con su estructura química, y existen dos tipos dentro de cada clase: adenina y guanina, para las purinas, y citosina y timina, para las pirimidinas (Figura 3). Así, cada nucleótido está conformado por una de las cuatro posibles bases nitrogenadas (abreviadas A, G, C y T, respectivamente), junto con una molécula de desoxirribosa y un grupo fosfato invariantes (Figura 2). Dado que sólo son las bases nitrogenadas las que pueden variar, en el lenguaje del ADN sólo existen cuatro letras: A, G, C y T (38).

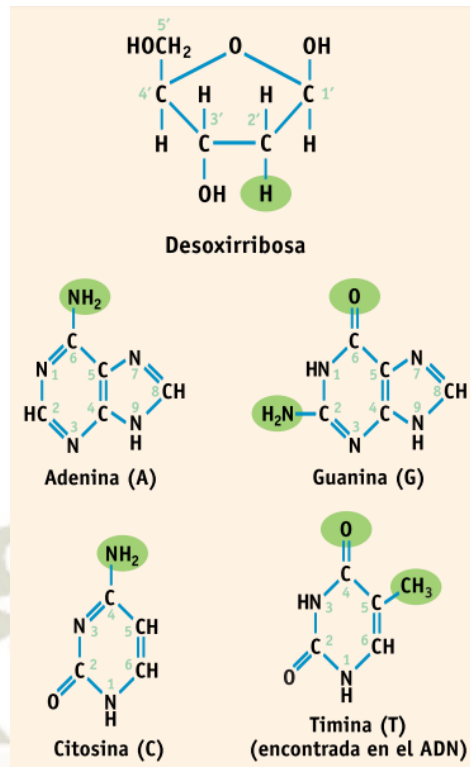


Figura 3. Moléculas componentes del ADN (unidas entre sí por medios de enlaces químicos)

Fuente: Riesgo, 2002

2.3.3.2. Genoma P53

P53, ha sido denominado “el guardián del genoma”, por su relevante función para identificar e impedir la multiplicación de células cuyo ADN ha sido alterado por factores que tienen la capacidad de inducir cambios en su estructura, conocidos como agentes mutagénicos y que por este mismo mecanismo inducen el fenómeno de la transformación maligna, lo que los convierte en agentes carcinógenos. P53 es un factor de transcripción cuyo gen está localizado en el brazo corto del cromosoma (17). Sus niveles se incrementan cuando las células están sujetas a la acción de agentes deletéreos tales como la luz ultravioleta, la radiación o agentes químicos, que tienen la capacidad de inducir daño en la molécula del ADN. El factor de transcripción p53 es un sensor de este daño y si identifica que el daño no es tan grave entonces induce su reparación, lo que permite continuar el ciclo celular. Pero si el daño es mayor, p53 induce la muerte celular programada o apoptosis. Si p53 presenta mutaciones, estas

funciones no pueden llevarse a cabo y las consecuencias son funestas: mutaciones de p53 en la línea germinal (células gaméticas) son responsables. Por otra parte, más de la mitad de las neoplasias en el humano tienen mutaciones somáticas adquiridas de p53. La mayoría de estas mutaciones se encuentra en el dominio de unión de p53 al ADN, lo que explica que con estas mutaciones no pueda llevar a cabo su papel fundamental de regulador del ciclo celular. El otro gran descubrimiento de los últimos años incumbe, primero, a las células troncales embrionarias y su enorme potencial terapéutico y, secundariamente, al hallazgo de células troncales en los organismos adultos, incluyendo a los seres humanos (39).

El gen p53, al igual que el gen Rb, es un gen que bloquea el desarrollo tumoral de las células. Si una persona es heterocigota para ese gen (hereda solamente una copia funcional (un alelo) del gen p53), su predisposición a que se desencadenen tumores es elevada y, muy probablemente desarrollará diferentes tumores de modo simultáneo en varios tejidos cuando alcance la edad adulta. Esta patología genética es afortunadamente rara y se conoce como síndrome de Li-Fraumeni.

Las mutaciones del gen p53 están en la base de muchos tipos de tumores. Muchas de estas mutaciones constituyen el primer paso de una compleja red de sucesos moleculares que culminan en la formación de los tumores. El gen p53 forma parte del cromosoma (17). En las células, la proteína p53 (codificada por el gen p53) se une a la molécula de ADN como se esquematiza en el gráfico. El complejo así formado estimula otro gen llamado p21, que interacciona con la proteína cdk2. Esta proteína (cdk2) interviene en el complejo proceso que desencadena la mitosis. Cuando el gen p21 forma un complejo con la proteína cdk2, la célula no puede iniciar la mitosis (40).

Las mutaciones sobre el gen p53 dan lugar a la síntesis de una proteína p53 que no puede unirse de forma efectiva al ADN y, por consiguiente, el gen p21 no adquiere la conformación adecuada para unirse a la proteína cdk2. La imposibilidad de formar el complejo entre las proteínas p21 y cdk2 no

puede así frenar la señal que pone en marcha la división celular. En consecuencia, la célula comienza una división incontrolada y se desencadena el tumor. Aun cuando algo se ha desentrañado, parece obvio que el gen p53 (y la proteína p53 codificada por aquél) es solo un componente de una compleja red de acontecimientos que culminan en el desarrollo del tumor(40).

2.3.3.3. Genoma ARID1A

ARID1A (el dominio de interacción rico en AT 1A, también conocido como BAF250a) es uno de los genes mutados más comúnmente en el cáncer (41). La mayoría de las mutaciones ARID1A son mutaciones inactivadoras y conducen a la pérdida de la expresión de ARID1A, lo que hace que ARID1A sea un objetivo terapéutico deficiente. Por lo tanto, es de importancia clínica identificar las consecuencias moleculares de la deficiencia de ARID1A que crean vulnerabilidades terapéuticas en los tumores mutantes de ARID1A. En una pantalla proteómica, encontramos que ARID1A interactúa con la proteína de reparación de desajuste (MMR) MSH2. ARID1A reclutó a MSH2 para cromatina durante la replicación del ADN y promovió la MMR. Por el contrario, la inactivación de ARID1A comprometió la MMR y aumentó la mutagénesis. La deficiencia de ARID1A se correlacionó con la firma genómica de inestabilidad de microsatélites y un patrón de mutación C> T predominante y una mayor carga de mutación en múltiples tipos de cáncer humano. Los tumores formados por una línea celular de cáncer de ovario deficiente en ARID1A en ratones singénicos mostraron una mayor carga de mutación, un número elevado de linfocitos infiltrantes de tumores y expresión de PD-L1. En particular, el tratamiento con el anticuerpo anti-PD-L1 redujo la carga tumoral y la supervivencia prolongada de ratones con tumores de ovario de tipo ARID1A deficientes pero no ARID1A. Juntos, estos resultados sugieren que la deficiencia de ARID1A contribuye al deterioro de la MMR y el fenotipo mutante en el cáncer, y puede cooperar con la terapia de bloqueo del punto de control inmunitario (42).

El proyecto Genoma Atlas (TCGA) ha catalogado mutaciones en diversos tumores humanos. Esta gran cantidad de datos ha sido instrumental en la

identificación de genes que pueden estar jugando un directo o papel indirecto en la carcinogénesis en virtud de su alteración común en un tipo de cáncer particular. Sin embargo, demostrando causalidad de estos genes "impulsores" candidatos y aclaración su papel en la tumorigénesis, requiere relevante experimental validación. ARID1A (también llamado BAF250a), que codifica un importante componente del complejo mamífero SWI / SNF, tiene surgió como uno de los genes mutados o downregulated más comúnmente en diversos tumores, incluido el gastrointestinal (43).

2.4. Análisis de antecedentes investigativos

A nivel local

- No existe información de estudios sobre diferencias en las mutaciones de los genes P53 y ARID1A en pacientes adultos con estadios pre neoplásicos gástricos según Pelayo Correa.

A nivel nacional

- No existe información de estudios sobre diferencias en las mutaciones de los genes P53 y ARID1A en pacientes adultos con estadios pre neoplásicos gástricos según Pelayo Correa.

A nivel internacional

- **Autor:** Bilgiç F , Gerçeker E, Boyacıoğlu SÖ, Kasap E, Demirci U, Yıldırım H, Baykan AR, Yüceyar H.

Título: Potencial papel de los genes del factor de remodelación de la cromatina en el riesgo de gastritis atrófica / cáncer gástrico.

Revista: Turk J Gastroenterol.

Resumen: La gastritis atrófica (AG), la metaplasia intestinal (IM) y Helicobacter pylori (HP) son los factores de riesgo para el desarrollo de cáncer gástrico (GC). La remodelación de la cromatina es uno de los mecanismos epigenéticos involucrados en la carcinogénesis de GC. El propósito de este estudio fue investigar los perfiles de expresión de genes de remodelación de cromatina definidos en

muestras de mucosa gástrica y sus valores como biomarcadores de carcinogénesis gástrica (44).

- **Autor:** Morgan C, Jenkins GJS, Ashton T, Griffiths AP, Baxter JN, Parry EM and cols.
- **Título:** Detección de mutaciones de p53 en tejido gástrico precanceroso.

Revista: Journal of Medical Microbiology (2009)

Resumen: El cáncer gástrico de tipo intestinal está precedido por gastritis y metaplasia intestinal. Existe incertidumbre con respecto a la etapa en que ocurren las alteraciones genéticas en el gen p53. Las especies reactivas de oxígeno (ROS) pueden participar en la producción de mutaciones y la inactivación de p53 se debe a la infección por la bacteria *Helicobacter pylori*. Hemos investigado si se pueden detectar alteraciones del gen p53 en gastritis y metaplasia intestinal utilizando el ensayo de mutación del sitio de restricción. También evaluamos la contribución potencial de ROS a la inactivación de p53 mediante espectroscopía de resonancia de espín electrónico (ESR) y correlacionamos con la presencia de *H. pylori*. En total, se encontró que el 35% de las muestras de gastritis y el 45% de las muestras de metaplasia intestinal contenían mutaciones en los exones 5–8 del gen p53. El análisis de espectroscopía de resonancia de espín electrónico mostró un aumento significativo en los niveles de radicales libres en muestras de gastritis en comparación con las muestras normales de metaplasia intestinal y cáncer, lo que sugiere que los radicales libres presentes en la gastritis pueden contribuir a las mutaciones de p53. No hubo diferencias significativas en los niveles de radicales libres entre los grupos positivos y negativos de *H. pylori*. Sin embargo, una pequeña subpoblación de los pacientes negativos para *H. pylori* tenía niveles mucho más altos de radicales libres. Esto sugiere un papel más destacado para otros factores en la producción de ROS (45).

2.5. Objetivos

2.4.1. Objetivo general:

Establecer diferencias en las mutaciones de los genes P53 y ARID1A en pacientes adultos con estadios pre neoplásicos gástricos según Pelayo Correa.

2.4.2. Objetivos específicos:

- Identificar las mutaciones en los genes P53 y ARID1A del tejido gástrico en pacientes con gastritis crónica no atrófica, gastritis crónica atrófica, gastritis crónica atrófica sin metaplasia, gastritis crónica atrófica metaplásica, gastritis crónica atrófica metaplásica con displasia.
- Secuenciar las mutaciones en los genes P53 y ARID1A presentes en pacientes con las patologías gástricas de estudio.
- Identificar la prevalencia de las mutaciones genómicas gástricas de P53 y ARID1A en pacientes con las patologías gástricas de estudio.
- Establecer diferencias entre mutaciones en los genes P53 y ARID1A del tejido gástrico de pacientes negativos y positivos a H. pylori.

2.5. Hipótesis: planteada del preámbulo

Dado que: Actualmente se sabe que existen mecanismos involucrados en la carcinogénesis de cáncer gástrico asociados a mutaciones genéticas, el gen p53 es el gen supresor de tumores inactivado más frecuentemente, otro gen como ARID1A encargado de la remodelación de la cromatina, proceso que ha sido descrito también como uno de los mecanismos involucrados en la carcinogénesis de cáncer gástrico, parecen ser factores claves en el desarrollo de esta patología

Ambos genes tendrían un valor como biomarcadores de carcinogénesis gástrica que podrían conducir a una mejor prevención o detección temprana de la displasia y el cáncer. Actualmente existe controversia con respecto a la etapa en la cual ocurren estas alteraciones en el genoma.

3. PLANTEAMIENTO OPERACIONAL

3.1. Técnicas, instrumentos y materiales de verificación

3.1.1. TÉCNICA

Se empleará la técnica de análisis molecular mediante extracción de ADN mediante el método HOLLINGER, amplificación por PCR con primers de ambos genes correspondientes al estudio

3.2. Campo de verificación

3.1.1. Ubicación espacial

El estudio se realizará en las instalaciones de hospitales de Arequipa con casos de pacientes con gastritis crónica no atrófica, gastritis crónica atrófica sin metaplasia, gastritis crónica atrófica metaplásica, gastritis crónica atrófica metaplásica con displasia.

3.1.2. Ubicación temporal

El estudio se desarrollará en el periodo comprendido entre Enero 2019 - Febrero 2020.

3.1.3. Unidades de estudio

3.1.3.1. Universo: Tejidos de biopsia con diagnóstico histopatológico pacientes con gastritis crónica no atrófica, gastritis crónica atrófica sin metaplasia, gastritis crónica atrófica metaplásica, gastritis crónica atrófica metaplásica con displasia.

Criterios de Inclusión:

- Diagnóstico de gastritis crónica no atrófica confirmado mediante biopsia positivos y negativos a H. Pylori
- Diagnóstico de gastritis crónica atrófica sin metaplasia mediante biopsia positivos y negativos a H. Pylori
- Diagnóstico de gastritis crónica atrófica metaplásica mediante biopsia positivos y negativos a H. Pylori

- Diagnóstico de gastritis crónica atrófica metaplásica con displasia mediante biopsia positivos y negativos a H. Pylori
- Diagnóstico de las patologías de estudio con tratamiento erradicador de H. Pylori

Criterios de exclusión:

- Gastritis crónica de tipo autoinmune.

3.1.3.2. Tamaño de la Muestra: 10 tejidos con diagnóstico histopatológico de gastritis crónica no atrófica, 10 tejidos con gastritis crónica atrófica sin metaplasia, 10 tejidos con diagnóstico histopatológico de gastritis crónica atrófica metaplásica y 10 con gastritis crónica atrófica metaplásica con displasia.

3.1.3.3. Procedimiento de muestreo: Obtención de muestras del servicio de patología

3.2. Estrategia de recolección de datos

3.2.1. Organización

- Se seleccionará pacientes con patologías gástricas de estudio de diferentes hospitales de la ciudad de Arequipa
- Se invitará a participar de la investigación a 40 pacientes diagnosticados con gastritis crónica no atrófica y atrófica que cumplan con los criterios de inclusión.
- Se les explicará en qué consiste la investigación y se les instará a realizar las preguntas que ellos decidan hacer.
- A los pacientes se les hará firmar un consentimiento informado, en el que permite que la investigadora realice un este estudio adicional a sus muestras y se procese la información obtenida.
- A estos pacientes se les comunicará la información derivada de la investigación que sea relevante y aplicable para su salud o la de su familia.

- Las biopsias diagnósticas se realizaron mediante biopsias endoscópicas siguiendo el protocolo de Sydney modificado.
- Se procederá a recolectar las muestras: 10 tejidos con diagnóstico histopatológico de gastritis crónica no atrófica, 10 tejidos con gastritis crónica atrófica sin metaplasia, 10 tejidos con diagnóstico histopatológico de gastritis crónica atrófica metaplásica y 10 con gastritis crónica atrófica metaplásica con displasia.
- Se extraerá el ADN de los tejidos obtenidos para luego realizar su secuenciación molecular, utilizando primers específicos para los genes P53 Y ARID1A.
- Se realizará un análisis bioinformático de los resultados del secuenciamiento y se procesarán los datos obtenidos.
- Estos datos permitirán un análisis DE LAS MUTACIONES EN LOS GENES P53 Y ARID1A en los diferentes grupos de estudio.
- Se procederá a comparar y establecer las diferencias de ESTAS MUTACIONES en pacientes adultos con gastritis crónica no atrófica, atrófica y con displasia.

3.2.2. Recursos

3.2.2.1. Humanos

- Investigadoras
- Asesor
- Personal especialista en laboratorio

3.2.2.2. Materiales

- Muestras parafinadas de tejidos gástricos con las patologías de estudio
- Kits de PCR

3.2.2.3. Financieros

3.2.2.3.1. Autofinanciado por investigadora

3.2.3. Validación de los instrumentos

No se requiere validación del instrumento

3.2.4. Criterios o estrategia para el manejo de resultados

a) Plan de Procesamiento

Los datos registrados serán luego codificados y tabulados para su análisis e interpretación.

b) Plan de Clasificación:

Se empleará una matriz de sistematización de datos en la que se transcribieron los datos obtenidos en cada Ficha para facilitar su uso. La matriz fue diseñada en una hoja de cálculo electrónica (Excel 2016).

c) Plan de Codificación:

Se procederá a la codificación de los datos que contenían indicadores en la escala continua y categórica para facilitar el ingreso de datos.

d) Plan de Recuento.

El recuento de los datos será electrónico, en base a la matriz diseñada en la hoja de cálculo.

e) Plan de análisis

Se empleará estadística descriptiva con medidas de tendencia central (promedio) y de dispersión (rango, desviación estándar) para variables continuas; las variables categóricas se presentarán como proporciones. La comparación de variables cualitativas entre grupos independientes de realizará con la prueba chi cuadrado, y la comparación de variables cuantitativas se realizará mediante análisis de varianza

(ANOVA) de una vía con análisis post-hoc, previa verificación de normalidad, caso contrario se empleará la prueba de Kruskal-Wallis; se considerará diferencias significativas con $p < 0.05$. Para el análisis de datos se empleará la hoja de cálculo de Excel 2016 con su complemento analítico y el paquete SPSSv.22.0.

4. CRONOGRAMA DE TRABAJO



ANEXOS DEL PROYECTO DE TESIS

ANEXO 1: FICHA DE RECOLECCION DE DATOS

GRUPOS DE ESTUDIO PACIENTES	GASTRITIS CRÓNICA	GASTRITIS CRÓNICA ATRÓFICA	CÁNCER GÁSTRICO
P 1			
P 2			
P 3			
P 4			
P 5			
P 6			
P 7			
P 8			
P 9			
P 10			
P 11			
P 12			
P 13			
P 14			
P 15			
P 16			
P 17			
P 18			
P 19			
P 20			

ANEXO 2 CONSENTIMIENTO INFORMADO

Mediante la presente se le invita a usted participar en un estudio de investigación, que tiene como propósito establecer las diferencias en la identificación molecular del microbioma bacteriano gástrico en pacientes adultos con cáncer gástrico, gastritis crónica no atrófica y atrófica.

Participación voluntaria

Luego de terminar de revisar este consentimiento, usted es la única que decide si desea participar en el estudio. Su participación es completamente voluntaria.

Procedimientos

1. Como parte de su evaluación endoscópica fue sometido a realizarse una biopsia para su diagnóstico y se realizará un estudio adicional a esta biopsia
2. Al formar parte de este estudio no será intervenido en ningún procedimiento adicional

Costos

Usted no deberá asumir ningún costo económico para la participación en este estudio, el costo de la secuenciación molecular serán asumidos por el investigador.

Beneficios

Puede ser que no haya un beneficio inmediato para usted por participar de este estudio. Sin embargo, usted estará contribuyendo decisivamente a conocer la prevalencia de microorganismos bacterianos gástricos presentes en pacientes con las patologías gástricas de estudio y probablemente en un futuro establecer una forma de diagnóstico y tratamiento, así como estrategias de prevención en salud.

Confidencialidad

Como hemos referido todos sus resultados que se generen serán tratados con la más estricta confidencialidad

Contacto

Si usted tiene alguna pregunta acerca de este estudio el personal asignado a coordinar este estudio puede responder preguntas adicionales sobre la investigación.

ANEXO 3 DECLARACIÓN DE CONSENTIMIENTO INFORMADO/AUTORIZACIÓN

Yo he tenido oportunidad de hacer preguntas, y siento que todas mis preguntas han sido contestadas.

He comprendido que mi participación es voluntaria y que puedo retirarme del estudio en cualquier momento. Además, entiendo que estando de acuerdo de participar en este estudio y estoy dando permiso para que se realice un estudio adicional a mi muestra como parte del método diagnóstico al que fui sometido anteriormente.

En base a la información que me han dado, estoy de acuerdo en participar en este estudio.

Nombre de participante que
da su autorización

DNI

Firma y / o huella digital del
participante que da su
autorización

Nombre del investigador
principal

DNI

FECHA:

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Valdivia M. Gastritis y gastropatías. Rev. Gastroenterol, 31(1), 38-48. Perú; 2011.
2. Cilleruelo M. y Fernández S. Gastritis. Ulcus gástrico y duodenal. Rev. Protocolos diagnóstico-terapéuticos de SEGHNPAEP, 1, 85-91. España; 2010.
3. Ramos E. Gastritis, úlcera y hemorragia digestiva. Rev. Pediatría Integral. 19 (2), 83-91. Servicio de Gastroenterología Infantil, Hospital Universitario La Paz. Madrid, España; 2015.
4. Ramírez A., Mendoza D., Leey J., y Guerra J. Estudio del Helicobacter pylori en el Perú. Rev. perú. med. exp. salud pública. 19(4), 209-214. Lima, Perú; 2002.
5. Ramirez A., y Gilman R., Helicobacter pylori en el Perú. 8(1), pp 129-134. Gastritis. Lima, Perú; 2000.
6. Correa P., y Piazuolo M. Natural history of Helicobacter pylori infection. Digestive and Liver Disease. 40(7), pp 490; 2008.
7. Rodriguez, J., Boffil A., Rodriguez L., Lozada J. y Socias, Z. Factores de riesgo asociados a la gastritis aguda o crónica en adultos de un hospital ecuatoriano. Medisan 23(3), 424-434. 2019
8. Sedena. Profilaxis, Diagnóstico y Tratamiento de Gastritis Aguda (Erosiva) en Adultos en los Tres Niveles de Atención. Guía de práctica clínica, 1-6. Consejo de Salubridad General, Gobierno Federal, México; 2005.
9. Correa P. y Yardley J. Grading and classification of chronic gastritis. One american response to the Sydney System. Rev. Gastroenterology 102, 355-359. Australia; 1992.
10. Dixon M., Genta R., Yardley J., y Correa P. Classification and grading of gastritis: the updated Sydney System. Am J Surg Pathol, 20(10), 1161-1181, Houston, USA; 1996.
11. Gaviria J. y Melguizo M. Gastritis crónica. Correlación de la clasificación de Sydney con el diagnóstico endoscópico. Rev. Colomb Cir, 19(3), 162-167. Medellin, Colombia; 2004.

12. Conteduca V., et al. H. pylori infection and gastric cancer: State of the art (review). *Int J Oncol* 42, 5-18; 2013.
13. Ministerio de salud. Guía médica de la práctica clínica. Servicio de Gastroenterología. Hospital Regional Cajamarca. Perú.
14. Correa P., et al. Gastric precancerous process in a high risk population: Cohort Follow-up. *Cancer Research*, (50), 37-47; 1990.
15. Rubiano J. y Velásquez M. Atrofia, metaplasia y cáncer gástrico: ¿dónde está la evidencia?. *Rev Colomb Cir*, 22(1), 39-46. Cali, Colombia; 2007
16. Fuentes E., Camorlinga M. y Maldonado C. Infection, inflammation and gastric cancer. *Rev. Salud Publica Mex*, 51(33) 427, México; 2009.
17. Rugge M. y Genta R. Staging and grading of chronic gastritis. *Hum Pathol*; (36), 228; 2005.
18. Jass J. y Filipe M. The mucin profiles of normal gastric mucosa, intestinal metaplasia and its variants and gastric carcinoma. *Rev. Histochem* 13(9), 931-935; 1981.
19. Sanchez J., et al. Regresión de la metaplasia intestinal gástrica tras la erradicación de la infección por *Helicobacter pylori* en un hospital de México. *Rev. Esp. Enferm. Dig.* 108 (12), 770-775; Sinaloa, México; 2016.
20. Piñol F., et al. Metaplasia intestinal en pacientes con reflujo duodenogástrico y ácidos biliares totales elevados. *Rev Cubana Med* (49), 17-32. Cuba; 2010.
21. Keda Y., et al. Histopathological differences in the development of small intestinal metaplasia between antrum and body of stomach. *Rev Pathol Res Pract*, (201), 487; 2005.
22. Mera R., et al. Long term follow up of patients treated for *Helicobacter pylori* infection. *Gut* (54), 1536. 2005.
23. Nardone G., Rocco A. y Malfertheiner P. *Helicobacter pylori* and molecular events in precancerous gastric lesions. *Aliment Pharmacol Ther* (20), 261; 2004.
24. Lahner E., et al. Long-term follow-up in atrophic body gastritis patients: atrophy and intestinal metaplasia are persistent lesions irrespective of *Helicobacter pylori* infection. *Aliment Pharmacol Ther* (22), 471; 2005.

25. Gisbert J. Tratamiento de la Infección por *Helicobacter pylori*. . IV Conferencia Española de Consenso Sobre. Rev esp gastroenterología y hepatología 39(10), España; 2016.
26. Macias E. Gastritis crónica. Geo salud (28 ago 2018), acceso 5 mar 2020, disponible en <https://www.geosalud.com/digestivo/gastritiscronica.htm>
27. Minalyan A., Gabrielyan L., Scott D., Jacobs J. y Pisegna J. The Gastric and Intestinal Microbiome: Role of Proton Pump Inhibitors. Current Gastroenterology Reports. 19(8), 42; 2017.
28. Brawner K., Kumar R., Serrano C., Ptacek T. y Lefkowitz E. *Helicobacter pylori* infection is associated with an altered gastric microbiota in children. Mucosal Immunology. 10(5), 1169-1177; 2017.
29. Ianiro G., Molina J. y Gasbarrini A. Gastric Microbiota. *Helicobacter*. 20, 68-71; 2015.
30. Jo H., et al. Analysis of Gastric Microbiota by Pyrosequencing: Minor Role of Bacteria Other Than *Helicobacter pylori* in the Gastric Carcinogenesis. *Helicobacter*. 21(5), 364-374; 2016.
31. Boldys H. et al. Even young patients with no alarm symptoms should undergo endoscopy for earlier diagnosis of gastric cancer. *Endoscopy*, 35(1), 61; 2003.
32. Breslin N., et al. Gastric cancer and other endoscopic diagnoses in patients with benign dyspepsia. *Gut*, 46(1), 93-97; 2000.
33. Tajiri H., et al. Routine endoscopy using a magnifying endoscope for gastric cancer diagnosis. *Endoscopy*, 34(10), 772; 2002.
34. García C. Actualización del diagnóstico y tratamiento del cáncer gástrico. *Rev. Med. Clin. Condes*, 24(4) 627-636; 2013.
35. Miller F. et al. Gastric cancer: radiologic staging. *Radiologic Clinics of North America*, 35(2), 331-350; 1997.
36. Fukuya T., et al. Efficacy of helical CT in T-staging of gastric cancer. *Journal of computer assisted tomography*, 21(1), 73-81; 1997.

37. Gall A., et al. Bacterial Composition of the Human Upper Gastrointestinal Tract Microbiome Is Dynamic and Associated with Genomic Instability in a Barrett's Esophagus Cohort. PLOS ONE. 10(6); 2015.
38. Riesgo J. El genoma humano. Rev. Ciencia 53(1), 6-11, México; 2002.
39. Salamanca F. Células troncales, cáncer y p53. Gac Méd Méx 145(5), 441-442. México; 2009.
40. López J. La proteína p53: proteína que inhibe el desarrollo de tumores. Infofarmacia.com (9 dic 2002), acceso 3 mar 2020, disponible en <http://www.info-farmacia.com/bioquimica/la-proteina-p53>
41. Department of Clinical Cancer Prevention, The University of Texas MD Anderson Cancer Center, Houston, TX, USA.
42. Department of Systems Biology, The University of Texas MD Anderson Cancer Center, Houston, TX, USA. 2020.
43. Cajuso T. et al. Exome sequencing reveals frequent inactivating mutations in ARID1A, ARID1B, ARID2 and ARID4A in microsatellite unstable colorectal cancer. Int. J. Cancer (135), 611–623; 2014.
44. Bray, F. et al. Global cancer statistics 2018: Globocan estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA Cancer J. Clin. 2018; 68: 394–424.
45. Ramírez A. y Sánchez R. Helicobacter pylori y cáncer gástrico. Rev. gastroenterol. 2008; 28 (3): 258-266.
46. Morgan C, Jenkins G, Ashton T. et al. Detection of p53 mutations in precancerous gastric tissue. Br J Cancer. 2003; 89: 1314–1319.
47. Bilgiç F., Gerçeker E., Boyacıoğlu SÖ., Kasap E., Demirci U., Yıldırım H., y cols. Potential role of chromatin remodeling factor genes in atrophic gastritis/gastric cancer risk. Turk J Gastroenterol. 2018; 29(4):427-435.
48. sociedad de anatomía patológica de España. 2011. Disponible en: <https://www.seap.es/>

49. Alejos Velázquez, Aragón Martínez, Cornejo Romero. Extracción y purificación de AND .2020. Disponible en: <http://www2.inecc.gob.mx/publicaciones2/libros/710/extraccion.pdf>
50. Baena Del Valle, Ramos Moreno, Gómez Alegría, Gómez Camargo. Comparación de métodos de extracción de ADN en tejidos parafinados y utilidad para amplificación por PCR. Rev. colomb. biotecnol [Internet]. 2013 Jan [cited 2020 Mar 13]; 15(1): 172-179. Available from: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-34752013000100019&lng=en.

