

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

Th1, Th2, Th17 cytokine profile and other pro-inflammatory cytokines (IL-1 β , IL-6 and TNF α) in the plasma of patients with gastric cancer

Carmen I. Villagrán-Blanco ¹, Rafael Fernández-Bostrán ², Elisa Hernández López ¹, Federico Nave ³, Irmgardt A. Wellmann ⁴, José Francisco Muñoz -Valle ⁵

¹Doctorado en Ciencias Biomédicas, Escuela de Estudios de Postgrado, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad de San Carlos de Guatemala, ²Universidad de Louisville, USA, ³Instituto de Investigaciones Químicas y Biológicas, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala, ⁴Investigadora independiente, Guatemala, ⁵Instituto de Investigación en Ciencias Biomédicas, Universidad de Guadalajara, México

*Autor al que se dirige la correspondencia: carmendetercero@gmail.com

Recibido: 31 de mayo 2021 / Revisión: 10 de junio 2021 / Aceptado: 21 de septiembre 2021

Resumen

El cáncer gástrico (CG) es la neoplasia del tubo digestivo más prevalente en el mundo, asociada a factores genéticos del hospedero y externos, como infección por *Helicobacter pylori*. La patogénesis incluye inflamación crónica mediada por citocinas del microambiente tumoral, detectables sistémicamente. Estudios previos reportan niveles séricos de citocinas y su contribución al diagnóstico de CG. El presente estudio analiza el perfil de citocinas del tipo de Th1 (IFN γ), Th2 (IL-4 e IL-10), Th17 (Th-17A) y otras pro inflamatorias: IL-1 β , IL-6 y TNF- α , en plasma de 70 casos de pacientes con CG comparándolos con 132 sujetos sanos equiparables en edad y sexo. Los casos provinieron del Hospital Roosevelt e Instituto Nacional de Cancerología de Guatemala (Incan) y formaron parte de un estudio previo. Se analizó la base de datos clínicos, patológicos y epidemiológicos. Se midieron los niveles de citocinas utilizando el sistema "MSD MULTI-SPOT Assay System". La edad promedio de los casos fue 59.5 años, (DE 13.0), 51%, eran positivos para IgG anti *H. pylori*. Un 71% presentó adenocarcinoma grado III (Borrmann), según clasificación de Lauren 55% tenían tipo intestinal. Las siete citocinas cuantificadas se encontraron significativamente elevadas ($p < .05$) en el plasma de los casos respecto a sus controles. Los casos de CG tipo difuso presentaron niveles de IFN γ significativamente elevados. Por regresión logística, las citocinas IL-6 e IL-10, están asociadas significativamente a CG ($p < .05$) independientemente del estatus de infección por *H. pylori*. Se destacan la IL-6 e IL-10 como las principales citocinas asociadas a la presencia de CG.

Palabras claves: Tumor gástrico, biomarcadores plasmáticos en cáncer, respuesta inmune, marcadores tumorales, diagnóstico

Abstract

Gastric cancer (GC) is the most prevalent gastrointestinal neoplasm in the world, associated with host and external genetic factors, such as *Helicobacter pylori* infection. The pathogenesis includes chronic inflammation mediated by cytokines of the tumor microenvironment, systemically detectable. Previous studies report serum levels of cytokines and their contribution to the diagnosis of GC. The present study analyzes the profile of cytokines of the type Th1 (IFN γ), Th2 (IL-4 and IL-10), Th17 (Th-17A) and other pro-inflammatory: IL-1 β , IL-6 and TNF- α , in plasma of 70 cases of patients with GC compared with 132 healthy subjects comparable in age and sex. The cases came from the Roosevelt Hospital and the National Cancer Institute of Guatemala -Incan- and were part of a previous study. The clinical, pathological and epidemiological databases were analyzed. Cytokine levels were measured using the "MSD MULTI-SPOT Assay System". The average age of the cases was 59.5 years, (SD 13.0), 51% were positive for IgG anti *H. pylori*, 71% had grade III adenocarcinoma (Borrmann), according to Lauren's classification, 55% had intestinal type. The seven cytokines quantified were found to be significantly elevated ($p < .05$) in the plasma of the cases compared to their controls. The diffuse GC cases presented significantly elevated IFN γ levels. By logistic regression, the cytokines IL-6 and IL-10 are significantly associated with GC ($p < .05$) regardless of the *H. pylori* infection status. IL-6 and IL-10 stand out as the main cytokines associated with the presence of GC.

Keywords: Gastric tumor, plasma biomarkers for cancer, immune response, tumoral markers, diagnosis of cancer



Introducción

El cáncer gástrico (CG) ocupa el cuarto lugar entre las neoplasias malignas más frecuentes a nivel mundial y es el tercero en mortalidad, después del cáncer de pulmón e hígado. Las tasas de mortalidad varían geográficamente, siendo particularmente elevadas en los países en desarrollo como Guatemala, si se compara el número de casos nuevos de CG en países desarrollados es de 275,000 (4.2%) y en los países menos desarrollados es de 667,000 (8.4%) y la mortalidad es de 107,000 en países desarrollados respecto a 362,000 en países menos desarrollados, además de reconocerse que en varias regiones hay un deficiente registro de datos (Ferlay et al., 2015). Información recientemente publicada en este tema, confirma lo reportado previamente, para el 2020 el CG era el quinto en incidencia y el cuarto en mortalidad a nivel mundial (Sung et al., 2020).

Investigaciones realizadas han identificado los factores de riesgo para el desarrollo del CG, tales como: Infección por *Helicobacter pylori*, consumo de tabaco, ingesta de alcohol, (Poorolajal et al., 2020). Por otro lado, se han descrito factores genéticos del hospedero como el complejo principal de histocompatibilidad (HLA) en población mexicana (Herrera-Goepfert et al., 2004), y polimorfismos de citocina IL-1 β (El-Omar et al., 2000), polimorfismos rs2275913 G > A y rs763780 T > C de IL-17 (Long et al., 2015).

En el proceso de desarrollo del adenocarcinoma gástrico, la estimulación de la respuesta inmune del hospedero tiene un rol fundamental produciendo citocinas proinflamatorias como IL-8, IL-6, IL-1 β , que atraen y activan a los neutrófilos y monocitos provocando inicialmente una reacción inflamatoria que puede evolucionar a gastritis crónica. La infección por *H. pylori* también produce infiltración de células dendríticas y linfocitos T y B y estimula la producción de la proteína quimiotáctica de los macrófagos MCP1, TNF α , IL-10 e IL-12, factor de crecimiento transformante beta (TGF- β) e interferón gamma (IFN γ) (Amieva & Peek, 2016).

Se ha demostrado experimentalmente, que durante la infección por *H. pylori* se puede producir un sesgo del equilibrio entre células Th1 /Th2 a favor de las últimas al reducir la secreción de IL-12 (Kao et al., 2006). Existe evidencia que apoya la participación de las citocinas en los eventos que intervienen en la iniciación, estimulación, invasión y metástasis del cáncer. En el proceso inflamatorio crónico, las citocinas tales como

TNF- α , e IL-6 inducen la generación de radicales libres que dañan el ADN causando mutaciones que permiten la iniciación del tumor (Peek et al., 2010).

Los niveles de diversas citocinas séricas han sido estudiados con relación al proceso de desarrollo del CG y también como una posibilidad de ayuda diagnóstica en lesiones malignas. Los niveles de citocinas como IFN- γ , TNF- α , IL-1, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10 e IL-18 se han encontrado significativamente elevados a nivel local en el estómago de los pacientes infectados con *H. pylori*, en contraste con sus controles no infectados (Lindholm et al., 1998). Adicionalmente, se ha reportado que niveles de citocinas IL-1 β , IL-6, TNF- α , IL-10, IFN γ , IL-4 pueden predecir la malignidad de una lesión gástrica (Sánchez-Zauco et al., 2017).

El desarrollo del tumor también es favorecido por citocinas pro inflamatorias que estimulan la proliferación celular reduciendo la apoptosis, mientras que las citocinas anti inflamatorias tales como IL-10 y TGF- β , contribuyen a la inmuno-evasión del tumor. Las propiedades invasivas del tumor se han relacionado al factor de necrosis tumoral (TNF). El factor transformador de crecimiento beta TGF β favorece la transición de epitelio mesenquimal y otras citocinas como TNF- α e IL-6 juegan un papel importante en la angiogénesis y la metástasis. En este contexto se ha propuesto el uso de la determinación sérica de citocinas tales como IL-6 e IL-10 como marcadores diagnósticos, aunque los autores han sugerido que es necesario realizar estudios con mayor número de casos (Landskron et al., 2014).

Considerando los hechos anteriores, es necesario profundizar los estudios que caractericen la respuesta inmune en la fisiopatología del desarrollo de esta lesión maligna, así como establecer las diferencias inmunológicas entre pacientes con CG con respecto a controles sanos con el fin de contribuir a profundizar el estudio de esta entidad clínica y el posible rol de la detección de citocinas como una alternativa de ayuda diagnóstica o indicador de daño tisular de esta patología.

En el presente estudio se identifica las diferencias entre los niveles de citocinas Th1, Th2, Th17 y otras citocinas pro inflamatorias producidas por distintos tipos celulares: IL-1 β , IL-6 y TNF- α , en pacientes con diagnóstico de cáncer gástrico, comparado con un grupo control equiparable en edad y sexo. Se relacionaron las diferencias de los niveles plasmáticos de los biomarcadores mencionados con los tipos de CG, para identificar aquellos biomarcadores potencialmente útiles en la detección de lesión gástrica que implique un daño tisular que puede ser debido a CG.

Materiales y Métodos

Se realizó un estudio de casos y controles. Se obtuvo la base de datos y muestras plasmáticas de pacientes estudiados en el 2015 provenientes de hospitales de la ciudad de Guatemala, Roosevelt e Incan y un paciente de un centro privado Gastrocentro. El grupo control consistió en voluntarios procedentes del Laboratorio Clínico del Centro de Investigaciones Biomédicas que no padecían ninguna enfermedad maligna. Tanto casos como controles, formaron parte de un estudio previo cofinanciado por la Dirección General de Investigación DIGI, y realizado en el Centro de Investigaciones Biomédicas de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de San Carlos en colaboración con el Laboratorio de Inmunología de la Universidad de Louisville (Wellmann et al., 2018). Las muestras plasmáticas se encuentran congeladas a menos 80 °C, siguiendo los protocolos de bioseguridad en ambos laboratorios.

Pacientes y controles

Considerando que la presente investigación tiene un propósito similar que la investigación previa, del cual provienen las muestras (Wellmann et al., 2018), que es la comparación entre casos de CG y controles, su cálculo es adecuado para el análisis de otras variables cuantitativas, habiéndose realizado a través del programa EPIDAT 3.1, en función de la variable proteínas uPAR, para un contraste o prueba de hipótesis, nivel de significancia de 5%, potencia de 90%, se obtuvo que se debía analizar como mínimo 64 casos y 128 controles. Casos y controles fueron apareados por sexo y edad con una variación máxima de 3 años. Se estableció una relación de dos controles por cada caso. Tanto los casos como los controles debieron cumplir correspondientemente con los criterios de inclusión y exclusión, entre los criterios no se incluyó el status de infección por *H. pylori*, únicamente los que se indican a continuación:

Casos

Criterios de inclusión

Diagnóstico de adenocarcinoma gástrico distal/proximal, incluyendo el cardias del estómago, mayores de edad; criterios de exclusión: pacientes operados por enfermedad remanente o por tumores secundarios, tumores metastásicos que derivan de otros órganos, pacientes tratados por linfoma de MALT u operados

por cualquier otra enfermedad gástrica diferente de adenocarcinoma gástrico, pacientes que han recibido quimio/radioterapia, así como pacientes con patologías autoinmunes diagnosticadas previamente.

Controles

Criterios de inclusión. Mayores de 18 años, aparentemente sanos, sin historia de cáncer. Criterios de exclusión: personas con cáncer u operados por tumores primarios, personas operadas por enfermedad remanente u operados previamente de cáncer gástrico o por tumores secundarios, tumores metastásicos que derivan de otros órganos, personas que hubiesen sido tratados por linfoma de MALT u operados por cualquier otra enfermedad gástrica diferente de adenocarcinoma gástrico, personas que hubiesen recibido quimio/radioterapia, personas con patologías autoinmunes diagnosticadas previamente y personas con cáncer diagnosticado previamente. En el estudio previo a todos los participantes, se les realizó el proceso de consentimiento informado, una encuesta clínico-epidemiológica que incluía datos relacionados a edad, sexo, procedencia, grupo étnico.

Consideraciones éticas

La presente investigación está basada en los principios éticos fundamentados en la Declaración de Helsinki, dirigidos a la investigación biomédica en seres humanos la cual debe concordar con los principios científicos aceptados; el diseño y ejecución debe formularse en un protocolo claramente escrito, la investigación la realizarán solo por personas científicamente calificadas, el objetivo deberá ser proporcional al riesgo, respetando la integridad del ser humano, así como la exactitud de los resultados. El estudio fue aprobado por el Comité de Ética en Investigación ZUGUEME el cual es un comité independiente acreditado ante el Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social de Guatemala en OFZU 1524-20, No. PROZU 552-20.

Determinación de citocinas plasmáticas

Se midieron los niveles de citocinas utilizando el sistema “MSD MULTI-SPOT Assay System (Meso Scale Discoveri, Rockville). Esta es una tecnología para la medición de citocinas y otras moléculas en muestras biológicas, en la que una placa especial (MULTI-SPOT) cubierta con múltiples anticuerpos contra citocinas para la fase de captura, seguida de reacción

con anticuerpos secundarios y detección por electroquimioluminiscencia. Siguiendo las recomendaciones del fabricante, analizando cada muestra en duplicado e incluyendo los controles establecidos por el fabricante, las medias de los límites de detección inferior, definidas como 2.5 desviaciones estándar sobre el blanco (0 pg/ml) fueron: IL-1 β (0.05 pg/ml, rango: 0.01-0.17); IL-6 (0.06 pg/ml, rango: (0.05-0.09); TNF α (0.04 pg/ml, rango: 0.01-0.13); IFN γ (0.37 pg/ml, rango: 0.21-0.62); IL-4 (0.02 pg/ml, rango: 0.01-0.03); IL-10 (0.04 pg/ml, rango: 0.02-0.08); IL-17A (0.31 pg/ml, rango: 0.19-0.55). Los coeficientes de variación intra- e inter-ensayo fueron menores de 10% para todas las citocinas.

Comparación de niveles de citocinas entre casos y controles

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

grupos (casos y controles). Se realizaron también comparaciones de los niveles de citocinas según el tipo microscópico de cáncer (clasificación de Lauren), estadio clínico, edad y etnia de los pacientes, en los controles se analizaron también estos dos últimos parámetros. Todas las pruebas estadísticas se interpretaron a un nivel de significancia de 5%.

Evaluación de la asociación de los niveles de citocinas con CG

Para evaluar la asociación entre los niveles de citocinas y CG y considerar los posibles predictores de enfermedad gástrica maligna, se realizó regresión logística, se analizaron los niveles plasmáticos de las siete citocinas cuantificadas como variables cuantitativas y la presencia de anticuerpos IgG anti *H. pylori*, la cual tiene especificidad y sensibilidad de 90% (Malfertheiner et al., 2017) como variable categórica.

Resultados

Fueron analizados 202 sujetos, de los cuales 70 eran casos de pacientes con adenocarcinoma gástrico y 132 controles sanos. Las edades, sexo y grupo étnico, eran equiparables en ambos grupos (Tabla 1). La mayoría de los casos de pacientes con adenocarcinoma, presentaban macroscópicamente, según la clasificación de Borrmann, lesión ulcerativa con bordes uniformes que corresponde al tipo III (71.4%), cuando se analizó

Tabla 1
Características demográficas de los 202 participantes en el estudio

	Controles n=132		Casos CG n=70		Valor de <i>p</i>
Sexo					
Femenino	60	(44.1%)	32	(45.7%)	
Masculino	72	(55.9%)	38	(54.2%)	
					.630
Edad promedio (años) DE	58.5	± 12.6	59.5	±13	
Etnia					
Ladino	18	(86.8%)	50	(71.4%)	
Indígena	17	(12.5%)	19	(27.1%)	
Otro (garífuna)	1	(0.7%)	1	(1.4%)	

Nota. DE: desviación estándar

microscópicamente, según la clasificación de Lauren, la mayoría eran tipo intestinal el (55.7%), seguido por el tipo difuso (41.4%) y tipo mixto (2.8%). La localización anatómica del tumor fue principalmente en el cuerpo y en el antro gástrico, (44.2%) y (37.1%) respectivamente. El estadio clínico TNM, fue estadio II (40.3%), seguido por estadio IV (28.4%), estadio III (22.4%), e indeterminado (1.5%) (Tabla 2) el 51% de los casos era positivo para anticuerpos IgG anti *H. pylori*, en el grupo control 45.5%. La presencia de *H. pylori* no fue reportada en el resultado de la biopsia gástrica.

Comparación de niveles de citocinas

El análisis del perfil de citocinas en los casos de CG y en los controles, fue realizado por medio de la medición de los niveles plasmáticos de IFN γ (Th1), IL-4 e IL-10 (Th2), IL-17A (Th17) y las citocinas pro inflamatorias IL-1 β , IL-6 y TNF- α . Se observó que en los casos de CG se detectaron niveles significativamente elevados respecto al grupo control (Tabla 3, Figuras 1 y 2).

Tabla 2
Características clínicas de los 70 casos de Cáncer Gástrico estudiados

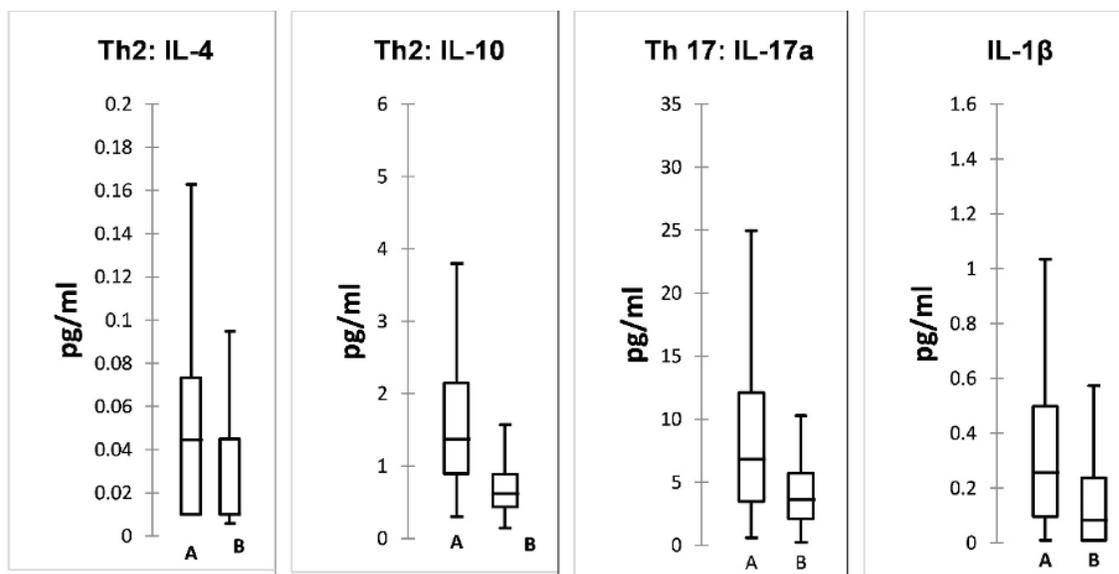
	N	%
Status de anticuerpos Elisa, IgG a anti <i>H. pylori</i>		
Positivo	36	(51.4)
Negativo	34	(49.5)
Tipo de tumor macroscópicamente, (clasificación Borrmann)		
Tipo I (polipoide y fungoide)	8	(11.4)
Tipo II (ulcerativo con bordes irregulares elevados)	4	(5.7)
Tipo III (ulcerativo con bordes uniformes)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

Tabla 3
Comparación de los niveles de citocinas en los 70 casos de CG y sus controles

Citocina	Concentración (pg/ml)						Valor p^{**}
	Casos			Controles			
	Mediana	RIQ*	n	Mediana	RIQ	n	
IFN γ	24.87	16.14-49.88	70	20.51	12.49-34.20	123	0.025
IL-10	1.37	0.89-2.14	66	0.62	0.44-0.89	124	< .001
IL-1 β	0.26	0.10-0.50	66	0.08	0.01-0.24	125	<.001
IL-4	0.04	0.01-0.07	68	0.01	0.01-0.04	125	< .001
IL-6	8.45	4.23-19.89	65	2.6	1.79-4.38	120	< .001
TNF α	6.48	4.82-9.28	69	4.42	3.28-5.68	128	<.001
IL-17 A	6.81	3.49-12.10	66	3.63	2.10-5.72	127	<.001

Figura 1

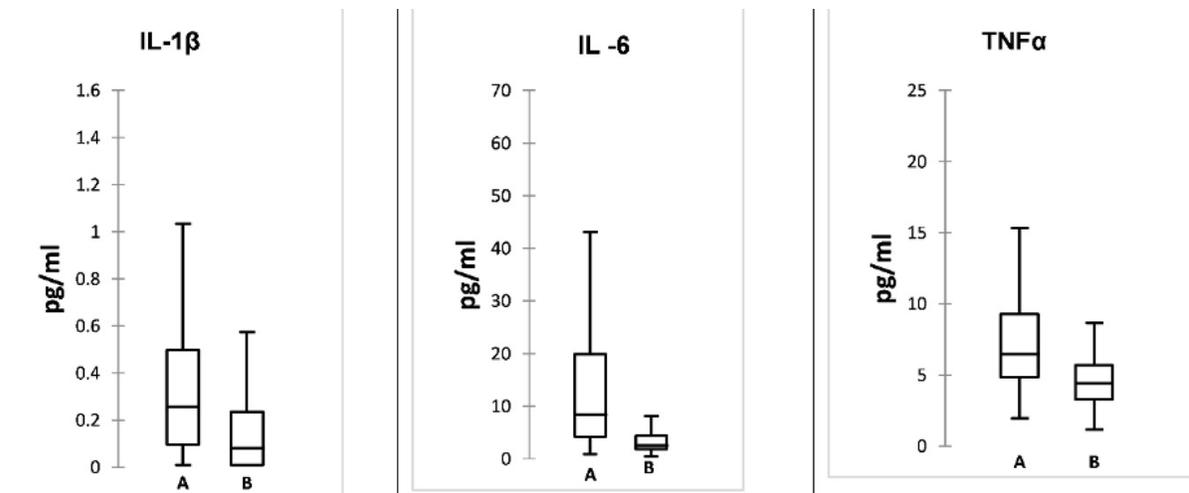
Comparación de los niveles plasmáticos en pg/ml de citocinas de Th1, Th2 y Th17 entre casos de CG y controles



Nota. A: casos B: controles

Figura 2

Comparación de los niveles plasmáticos en pg/ml de citocinas pro inflamatorias IL-1 β , IL-6 y TNF- α , en: casos de Cáncer gástrico y sus respectivos controles



Nota. A: casos B: controles

Asociación entre niveles plasmáticos de citocinas y CG como predictoras de malignidad gástrica

La regresión logística de los niveles de citocinas y presencia de anticuerpos IgG anti *H. pylori* como factores asociados a CG, indicó que la presencia de anticuerpos anti *H. pylori* no están asociados significativamente a la presencia de CG, tomando en cuenta que la IgG anti *H. pylori* no determina infección actual, pero que se ha reportado que tiene una sensibilidad y especificidad del 90% (Malfertheiner et al., 2017) (Tablas 4 y 5 Figura 3). Se evidenció que únicamente los niveles plasmáticos de citocinas: IL-6 e IL-10 están asociados significativamente a la presencia de CG.

Comparación de los niveles de citocinas según el tipo microscópico de cáncer (clasificación de Lauren)

Cuando se comparó el tipo de cáncer, difuso e intestinal, con los niveles plasmáticos de citocinas, en el grupo de casos con diagnóstico de CG tipo difuso se encontró que la citocina de Th 1: IFN γ presentó niveles elevados con valores máximos de 118.6 pg/ml, con una Mediana 34.666 y Rango intercuartil 48.050, respecto al grupo de CG tipo intestinal, cuyos niveles de IFN γ

eran, más bajos con mediana de 20 pg/ml contra tipo difuso, al realizar la comparación, se encontró un valor de $p = .016$ (Figura 4). Las otras citocinas estudiadas: IL-1 β , IL-10, IL17A IL-6 y TNF- α no mostraron diferencias significativas respecto a los tipos de CG diagnosticado, $p > .05$ (Figura 4). Los valores de la IL-4 fueron sumamente bajos en comparación de las otras citocinas, lo que hace que el valor de OR sea muy alto, a pesar del límite superior tan alto del IC, el OR no indica oportunidad de riesgo, el IC incluye valores desde 0.0003 y es no significativo ($p = .325$)

Comparación de los niveles de citocinas según el estadio clínico del tumor

Otra observación realizada fue con respecto al estadio clínico de los pacientes con CG. Este estudio categorizó estadios I y II en un grupo, con 48% de los pacientes, otro grupo de 50% de casos en estadio III y IV, y 2% de casos clasificados como indeterminados. Al realizar el análisis estadístico entre los niveles de cada citocina según estos dos grupos de estadios se encontró leves diferencias entre los niveles plasmáticos de citocinas en los grupos, las cuales no fueron significativas ($p > .05$). Para IFN γ : $p = .629$, IL-4: $p = .370$, IL-10: $p = .319$, IL-17A: $p = .207$, IL-1 β : $p = .180$, IL-6: $p = .324$ y TNF- α : $p = .141$ (Tabla 6)

Tabla 4
 Regresión logística de las citocinas estudiadas, variables cuantitativas niveles de citocinas y variable categórica, IgG anti H. pylori

Variables cuantitativas:	OR	valor de <i>p</i>
IFN γ	1.0028 IC 95 % (0.9834, -1.0226)	.782
IL-4	4442.5342 IC 95 % (0.0003, 7.7939E+10)	.325
IL-10	6.5135, IC95 % (2.2, 16.7742)	< .0001
IL 17A	1.0162 IC 95 % (0.9101, 1.1348)	.774
IL-1 β :	1.5938 IC 95% (+0.2309, -11.0018)	.635
IL-6:	1.2858, IC95 % (1.0926, -1.5131)	< .0001
TNF α	1.2 IC 95 % (0.8788, -1.7442)	.213
Variables categóricas:		
<i>H. pylori</i> positivo	1.6014 IC 95% (0.5904, 4.3440)	.352
<i>H. pylori</i> negativo		

Nota. La IL-4 tuvo un OR muy amplio por lo que no se consideró en el análisis final

Tabla 5
 Significancia estadística de la asociación de los niveles de citocinas plasmáticas como predictores de cáncer gástrico

Citocina	OR [IC 95%]	<i>p</i>
IFN γ	1.00 [0.98, 1.02]	.782
IL-4	4,442.53 [0.0003, 7.79E+10]	.325
IL-10	6.51 [2.26, 18.77]	< .001*
IL-17 ^a	1.02 [0.91, 1.14]	.774
IL-1 β	1.59 [0.23, 11.00]	.635
IL-6	1.29 [1.09, 1.51]	< .001*
TNF- α	1.24 [0.88, 1.74]	.213

Nota. * IL-10 e IL-6 mostraron ser predictores de CG significativos

Figura 3

Asociación entre los niveles de citocinas de Th1, Th2, Th17 y otras citocinas pro inflamatorias y cáncer gástrico en los casos por status de infección por *H. pylori*

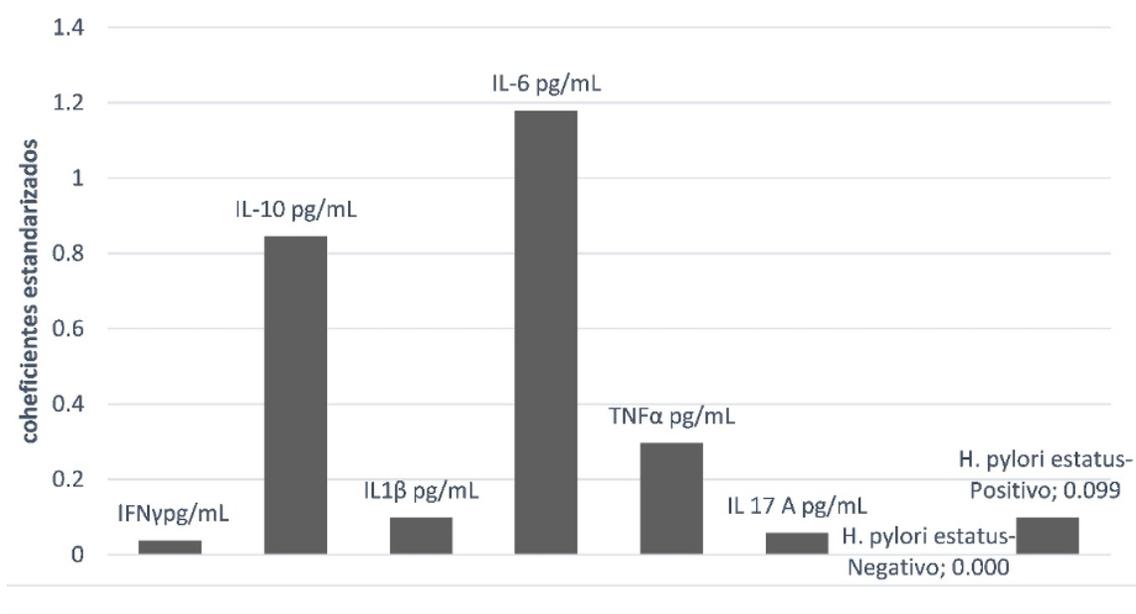


Figura 4

Comparación de los Niveles de IFN γ entre los casos de CG según clasificación de Lauren: difuso e intestinal

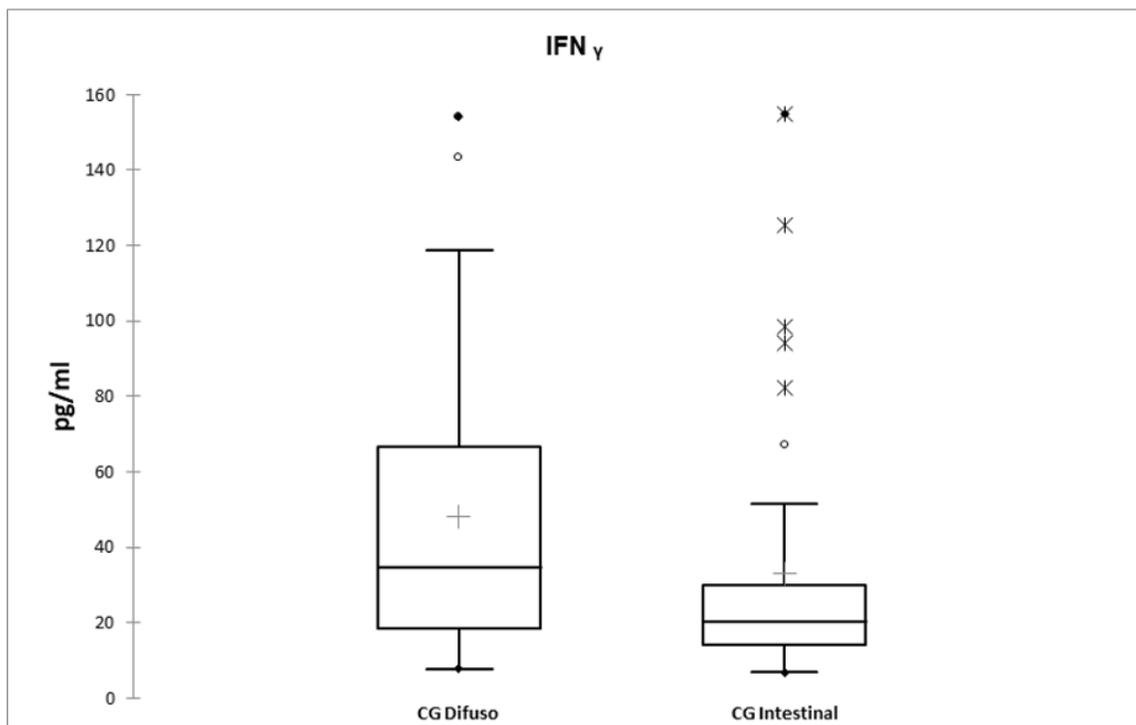


Tabla 6

Comparación de los niveles de citocinas por estadios clínicos de CG I y II con estadios clínicos III y IV

Citocina	Concentración (pg/ml)						Valor p^{**}
	Estadio I y II			Estadio III y IV			
	Mediana	RIQ*	n	Mediana	RIQ	n	
IFN γ	26.431	16.341-51.284	34	22.48	16.237-45.437	35	.629
IL-10	1.266	1.025-2.210	30	1.466	0.799-1.902	34	.319
IL-1 β	0.303	0.134-0.585	30	0.214	0.052-0.381	34	.180
IL-4	0.048	0.025-0.073	31	0.035	0.010-0.072	35	.370
IL-6	5.906	3.596-19.8888	33	9.967	5.913-23.380	32	.324
TNF α	6.757	5.556-9.563	33	5.713	4.439-8.461	34	.141
IL-17 A	7.625	3.971-13.429	32	6.155	3.177-9.822	33	.207

Nota. *RIQ = Rango intercuartil **Prueba de U de Mann-Whitney

El n varía para los casos analizados en algunas citocinas por haber eliminado los valores extremos (outliers). Ninguna citocina mostró significancia estadística

Comparación de los niveles de citocinas según la edad de los pacientes

Tomando en cuenta que el CG se presenta sobre todo en el adulto mayor, se analizaron los niveles de citocinas agrupando dos rangos de edad, < 60 años y > de 60 años. Se encontraron diferencias significativas por grupo de edad para las citocinas pro inflamatorias tanto en casos TNF α ($p = .023$) como en controles $p = .035$ para IL-17A ($p = .003$) en ambos grupos. La IL-6 presentó valores más elevados en adultos mayores únicamente en el grupo control, $p = .0015$.

Comparación de los niveles de citocinas según la etnia de los pacientes

Al comparar los niveles plasmáticos de citocinas por grupo étnico de los casos de CG, se encontró que hubo únicamente diferencia significativa al analizar los niveles de IL-10 ($p = .007$), siendo más elevados en el grupo étnico indígena. Las otras 6 citocinas analizadas presentaron leves diferencias, que, en el análisis estadístico, no fueron significativas $p > .5$, a diferencia del grupo control, en el que ninguna se encontró diferencia

significativa en el análisis de citocinas por grupo étnico $p > .5$ (Figura 5).

Discusión

La carcinogénesis gástrica es un proceso multifactorial que puede tomar muchos años para completarse, iniciando con un proceso inflamatorio que sigue una ruta patológica descrita hace varias décadas, muchas veces asociada a la infección por *H. pylori* (Correa, 1992). El proceso inflamatorio crónico que determina la lesión gástrica es mediado por citocinas y otras moléculas que han sido estudiadas por varios investigadores (Alpizar-Alpizar et al., 2009).

El presente estudio describe los niveles de las citocinas IFN γ , IL-4, IL-10, IL-17A y otras citocinas pro inflamatorias producidas por distintos tipos celulares (IL-1 β , IL-6, TNF- α) tanto en casos diagnosticados con CG como en un grupo control, y realiza una asociación con las citocinas potencialmente indicadoras del proceso inflamatorio crónico que genera un adenocarcinoma gástrico, lo que tendrá que relacionarse con la adecuada historia clínica del paciente.

Para caracterizar el perfil de citocinas plasmáticas en pacientes con CG, se analizaron los niveles de

Figura 5

Niveles de citocinas en los casos y los controles, clasificados en menores de 60 años y mayores de 60 años

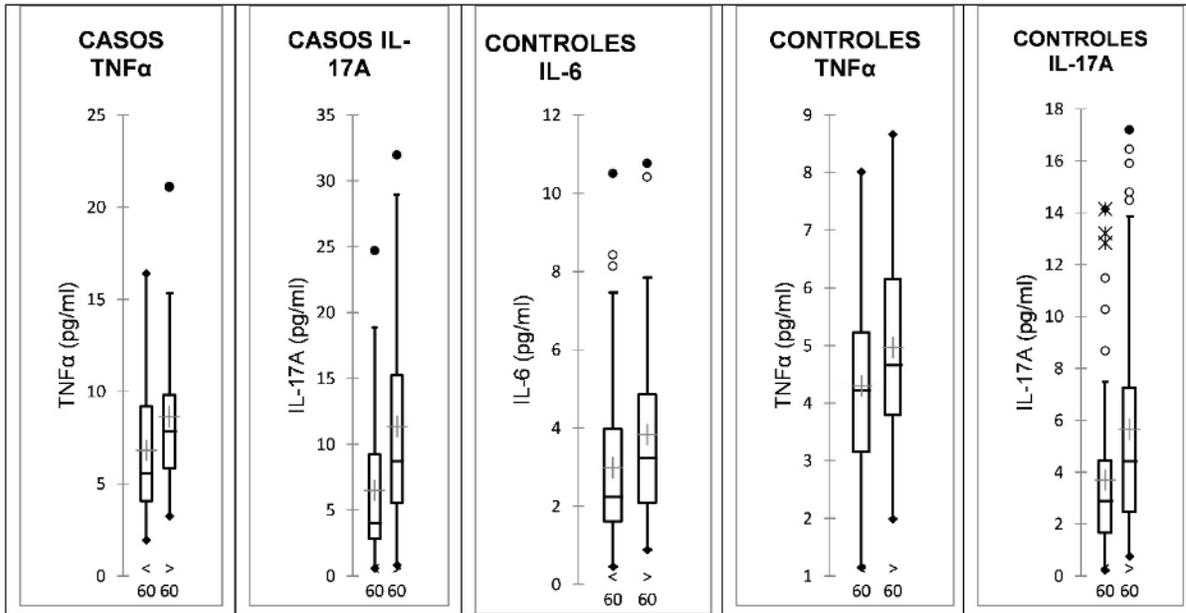
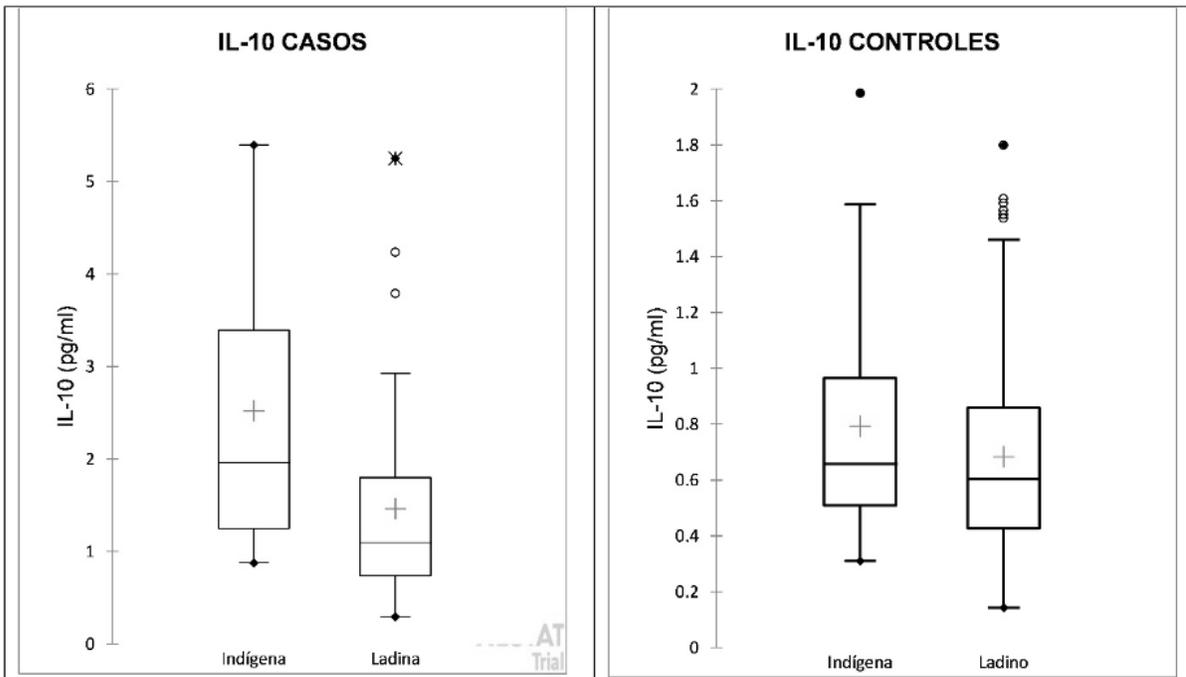


Figura 6

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



siete citocinas reconocidas por su acción inmune en las respuestas Th1, Th2, Th17 y un grupo de citocinas proinflamatorias producidas por otros tipos celulares: IL-1 β , IL-6, TNF- α , en muestras plasmáticas de 202 sujetos, 70 pacientes con diagnóstico de CG y 132 controles sanos. De los 70 casos de CG tenían edad promedio 59.5 y el grupo étnico en su mayoría eran latinos (71%).

Respecto a las lesiones gástricas, la mayoría de pacientes (71.4%) tenían lesiones cancerosas clasificadas como lesiones tipo III según clasificación macroscópica de Borrmann, con bordes ulcerativos uniformes, que han sido reportadas ser de mal pronóstico y con supervivencia menor a 5 años (Catalano et al., 2009; Zhai et al., 2020), esto indica que los casos en su mayoría estaban en un estado avanzado de la enfermedad.

Microscópicamente el 55.7% de CG fue tipo intestinal, según la clasificación de Lauren, este tipo ha sido reportado como el CG más frecuente en diversos grupos poblacionales (Catalano et al., 2009). Respecto a la localización anatómica del tumor, se encontró que en la mayoría de casos fue del cuerpo y en el antro gástrico estas localizaciones a diferencia de las regiones más proximales del órgano, se asocian a infección por *H. pylori* (Hansen et al., 2007). La prevalencia de infección por *H. pylori* en los casos estudiados fue de 51%. Otros estudios reportan que los casos de CG en países latinoamericanos presentan un 71% de prevalencia, sin embargo, se debe tener presente que la etiología del CG como otros cánceres es multifactorial, lo que implica una interacción entre diversos componentes, tanto bacterianos como dieta del paciente, estilo de vida incluyendo tabaquismo (Vahid & Davoodi, 2021) así como la carga genética del hospedero (Chiurillo, 2014; El-Omar et al., 2000; Petrovich, 2016).

El estadio clínico TNM más frecuente en los casos fue el estadio II, 27 (40.3%), lo que indica que el tumor invade muscularis, propia o sub serosa, y con ganglios linfáticos afectados, por lo general dependiendo el número de ganglios afectados, el pronóstico de los casos es malo (Catalano et al., 2009).

Los niveles plasmáticos de citocinas de los casos de CG fueron comparados con los niveles de las mismas citocinas con un grupo control de 132 sujetos aparentemente sanos, sin antecedentes de enfermedad cancerosa, que eran equiparables en edad y sexo. Diferentes publicaciones han reportado los altos niveles de citocinas asociadas al proceso inflamatorio gástrico crónico que se produce en el desarrollo del CG, los esfuerzos de investigación se han orientado a búsqueda e identificación de biomarcadores plasmáti-

cos que contribuyan al diagnóstico temprano y no invasivo de lesiones gástricas malignas (Sánchez-Zauco et al., 2017; Zou et al., 2018).

Se encontraron valores plasmáticos de las siete citocinas estudiadas, significativamente elevados en los casos de CG, comparados con el grupo control. Otros investigadores han descrito la relevancia de la elevación de los niveles de estas citocinas en el desarrollo de CG asociándola a la infección por *H. pylori* (Landskron et al., 2014, Sánchez-Zauco et al., 2017), aunque también se ha reportado dicha asociación en casos de CG sin infección por *H. pylori* (Zou et al., 2018). El presente estudio encontró significativamente elevados los niveles de las siete citocinas en comparación al grupo control, aunque no en asociación estadísticamente significativa a infección por *H. pylori*, identificada por la positividad a anticuerpos IgG circulantes, sabiendo que las limitaciones de estas pruebas, como el no diferenciar una infección actual de una infección pasada y la falta de pruebas fabricadas con antígenos locales, que identifiquen anticuerpos contra antígenos de cepas autóctonas, aunque la sensibilidad de la detección de IgG anti *H. pylori* se ha reportado tener sensibilidad y especificidad del 90% (Malfertheiner et al., 2016). Así mismo se deben considerar otros factores que inciden en el desarrollo del CG, siendo según la literatura los más relevantes, la virulencia de las cepas de *H. pylori* y la producción de toxinas CagA, la carga genética de hospedero que incluye polimorfismos de citocinas (Chiurillo, 2014; El-Omar et al., 2000; Petrovich, 2016; Torres, 2004) así como factores epigenéticos (Vahid & Davoodi, 2021).

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

Un hallazgo relevante en la presente investigación es que cuando se relacionó el tipo de CG según la clasificación de Lauren, con los niveles plasmáticos de citocinas, únicamente los niveles de IFN γ se encontraron significativamente elevados en los casos de cáncer

gástrico de tipo difuso, sugiriendo que en este tipo de CG existe un mayor proceso inflamatorio, mediado por linfocitos Th1 en los pacientes que tenían este tipo de lesión gástrica, este tipo de lesión se considera ser de mayor malignidad que el CG tipo intestinal (Catalano et al., 2009). Sin embargo, hay autores que han descrito niveles elevados de esta citocina en los diferentes tipos de CG (Sánchez-Zauco et al., 2017). Otros investigadores han sugerido una mayor activación de linfocitos Th1 en los casos de CG difuso relacionando el tipo intestinal a la presencia de infección por *H. pylori* y a la capacidad de esta bacteria de polarizar la respuesta inmune a un perfil Th2 (van den Engel et al., 2006). La evidencia de la presente investigación, sugiere mayor activación de Th1 en este tipo de CG lo cual se debe confirmar con estudios que incluyan un mayor número de casos e identificación de polimorfismos de esta citocina.

Los niveles elevados de IL-4, en los pacientes con CG respecto al grupo control, es acorde con lo descrito previamente, ya que, esta citocina se ha encontrado elevada en otros estudios en todos los tipos de CG, aunque también en cáncer colorrectal, especialmente cuando se cuantifica localmente en el microambiente tumoral. La IL-4 se ha relacionado a pacientes con CG que presentan una elevada tasa de mortalidad y diseminación de las lesiones primarias. Se ha descrito también que los niveles plasmáticos de esta citocina correlacionan con los niveles detectados en el área cercana al tumor (Bednarsz-Misa et al., 2020). Otros estudios, relacionan polimorfismos de IL-4 con una elevación significativa de los niveles séricos de dicha citocina (Cárdenas et al., 2018). La cuantificación de IL-4 especialmente en el microambiente tumoral podría ser de utilidad en la identificación de casos de CG.

Con relación a la IL-10, los niveles plasmáticos de esta citocina se encontraron significativamente elevados en los casos de CG, adicionalmente la regresión logística mostró una asociación significativa de esta citocina como un predictor de CG. Los altos niveles séricos de IL-10 han sido descritos previamente por varios autores quienes han postulado su utilidad diagnóstica en CG (Sánchez-Zauco et al., 2017). La elevación de IL-10, además de haber sido descrita como biomarcador útil en el diagnóstico de adenocarcinoma gástrico, se ha asociado a la progresión de CG, sin embargo, se ha sugerido realizar estudios con un número mayor de pacientes y realizar comparaciones con grupo control que tengan edad similar (Shokrzadeh et al., 2018). Además, es conocido que la IL-10 se eleva en estados avanzados de CG, conduciendo a la incapacidad

de eliminar células malignas (Szkardkiewicz et al., 2010). Las células malignas pueden secretar IL-10, por lo que es una de las citocinas señaladas con utilidad diagnóstica. Adicionalmente en el presente estudio, se encontró la IL-10 significativamente elevada en los casos de CG que correspondieron al grupo étnico indígena, los niveles de esta citocina no se encontraron elevados en el grupo étnico indígena del grupo control. La explicación puede residir en los polimorfismos que pueden presentarse en grupos poblacionales diversos ante esta patología gástrica (Kulmambetova et al., 2020).

Los niveles plasmáticos de IL-17A se encontraron elevados en los pacientes con CG respecto al grupo control, sin encontrar asociación significativa con CG. Al analizar los niveles plasmáticos de IL-17A en los casos de CG divididos en dos grupos de edad, se encontraron significativamente elevados en los adultos mayores de 60 años, tanto en los casos como en los controles, aunque cuantitativamente los niveles fueron más elevados en los casos de CG. La elevación de esta citocina en el grupo control puede relacionarse con el estado inflamatorio que sufre el adulto mayor (Franceschi et al., 2007). Esta es una citocina pro inflamatoria que ha sido estudiada en CG, donde se ha caracterizado por encontrarse en niveles elevados (Karabulut, 2019). Un reciente metaanálisis reporta que los efectos generales de dos polimorfismos rs2275913 y IL-17F rs763780, de IL 17A, se asocian significativamente con la susceptibilidad al CG previamente ya descrito (Jie-Fang et al., 2019). En el análisis de etnicidad, estos dos polimorfismos se asociaron con poblaciones asiáticas, pero no con caucásicos (Long et al., 2015). En el presente estudio, los niveles elevados de esta citocina, no se encontraron asociados al grupo étnico.

Con relación a las otras citocinas estudiadas, producidas por diferentes tipos celulares, como la IL-1 β , que mostró niveles plasmáticos elevados en los casos de CG, esta tiene función pro inflamatoria y se ha descrito tanto en modelos animales como en humanos, que se puede encontrar elevada en CG (Sánchez-Zauco et al., 2017), especialmente cuando el paciente tiene infección por *H. pylori* (Hitzler et al., 2012). El presente estudio la encontró elevada independientemente del status de anticuerpos anti *H. pylori*.

Por otro lado, los polimorfismos de la IL-1 β se han asociado también con la mayor susceptibilidad a padecer CG en población costarricense reconociéndose la necesidad de efectuar más estudios que contribuyan a caracterizar estas variaciones (Alpizar-Alpizar et al.,

2005). Adicionalmente, también en población china se han encontrado polimorfismos de IL-1 β asociados a CG (Zhang et al., 2005). El presente estudio a pesar de encontrarla significativamente elevada en los casos, la regresión logística no demostró asociación ($p > .05$).

Se evidenció la elevación de IL-6 y la regresión logística demostró asociación con los casos de CG, lo que ha sido descrito previamente por otros autores, incluso, se ha asociado a la diseminación o metástasis de una lesión primaria (Ashizawa et al., 2005). Adicionalmente se ha reportado que la IL-6 es una citocina multifuncional que entre sus acciones puede regular positivamente la metilación del ADN (Foran et al., 2010). Los niveles elevados en los casos de CG en el presente estudio, son consistentes con lo previamente descrito con relación a la presencia de CG, aunque no se demostró su elevación con los estadios más avanzados de CG $p = .324$. La IL-6 se encontró elevada en el grupo control de adultos mayores, lo que guarda relación con el estado pro inflamatorio que caracteriza esta etapa de la vida (Franceschi et al., 2007)

Los altos niveles de TNF- α encontrados en los casos de CG respecto al grupo control, aunque no asociados directamente a CG, concuerda con lo descrito previamente, siendo una citocina pro inflamatoria que se ha encontrado elevada en los casos de CG, aunque estadísticamente no significativa (Epplein et al., 2013). Recientemente se ha descrito que TNF- α tiene funciones en la inmunopatogenia del CG, por medio de la inducción de *PDL-1*, que codifica la síntesis de PDL-1 la cual es una molécula inmunosupresora, al igual que otras citocinas como IL-6, ha sido identificado como inductor inmunológico involucrado en el desarrollo de CG (Ju et al., 2020). El presente estudio, describe el TNF- α específicamente elevado en los adultos mayores de 60 años en los casos de CG y en los controles, pero siempre más elevada en los casos respecto a controles, esta elevación en el grupo control se puede explicar por el estado pro inflamatorio que se ha descrito en el adulto mayor (Franceschi et al., 2007). En adultos mayores se ha descrito que en el envejecimiento disminuye la expresión del receptor de IL-2, hay pérdida de los linfocitos T naïve, lo que también favorece la disminución de IL-2. El adulto mayor se presenta un estado inflamatorio crónico, causado por un incremento en los niveles de IL-6 y TNF- α lo que favorece la apoptosis de linfocitos CD4 y CD8. Lo encontrado en el presente estudio está acorde a lo reportado previamente (Saavedra & García, 2014).

Se encontró por regresión logística, una asociación como moléculas predictoras de CG a IL-6 y a

IL-10. La IL-6 tiene una acción multifuncional, lo que ha sido descrito por varios autores (Amieva & Peek, 2016; Landskron et al., 2014; Lindholm et al., 1998; Sánchez-Zauco et al., 2017). Por otro lado, IL-10 tiene función principalmente antiinflamatoria, es producida principalmente por células Th2, está descrito en la literatura que los altos niveles de esta citocina están asociados a CG (Shokrzadeh et al., 2018), especialmente algunos polimorfismos (Alpizar-Alpizar et al., 2020). La literatura revisada se enfoca en estudios con grupos seleccionados de citocinas y se han establecido asociaciones que han contribuido al mejor entendimiento de la inmunopatología del CG, sin embargo hay factores del hospedero como factores étnicos, los que determinan la presencia de polimorfismos genéticos en las citocinas que aumentan la susceptibilidad al desarrollo de CG, adicionalmente, la variación geográfica de la prevalencia de las distintas cepas de *H. pylori* de mayor o menor virulencia y su interacción con el sistema inmune del hospedero (Cover, 2016; Cover & Blanke, 2005; Polk & Peek, 2010).

Los métodos de detección temprana y no invasiva de CG han sido considerados una necesidad preponderante para mejorar el manejo clínico de los casos. Internacionalmente, la investigación se inclina a la búsqueda de biomarcadores que contribuyan a su detección con el propósito de mejorar su manejo. Se han estudiado los niveles de pepsinógenos (Zhou et al., 2020), la proteína suPAR (Fernández-Bohrán et al., 2020), la detección de ARN metilado (Abbasi & Heydari, 2018) y la detección y cuantificación de citocinas, la cual es prominente en el microambiente tumoral. Estudios recientes han identificado que las citocinas pueden ser detectadas a nivel plasmático siendo representativas de los niveles encontrados en el microambiente tumoral, tanto en pacientes con lesiones gástricas pre malignas como malignas. La determinación sérica IL-6 e IL-10 ha sido estudiada, identificándose estas citocinas como biomarcadores plasmáticos útiles en la identificación de casos de CG (Landskron et al., 2014). La presente investigación concuerda con lo publicado previamente al identificar asociación entre las citocinas IL-6 e IL-10 en los casos de CG, independientemente de la infección por *H. pylori*. Aunque, no se puede afirmar que la elevación de estas citocinas sea específica en casos de CG ya que otros procesos patológicos, infecciosos o neoplásicos pueden provocar elevación especialmente de IL-6, como la infección Sars -Cov -2 (Coomes & Haghbayan, 2020). Recientemente ambas citocinas IL-6 e IL-10 se han descrito como moléculas marcadoras de mortalidad por Covid-19 (Udomsinprasert et al., 2021).

Por otro lado, la elevación de IL-10, ha sido relacionada a diversos tipos de cáncer principalmente cuando son lesiones de mal pronóstico (Zhao et al., 2015).

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

Se encontró que el tipo microscópico difuso de CG, (clasificación de Lauren), se encuentra significativamente asociado a niveles elevados de IFN γ , lo que podría ser de utilidad para la clasificación inicial de este tipo de CG. Así mismo al analizar el grupo étnico de los casos, se encontró que la etnia indígena posee valores significativamente elevados de IL-10.

Los hallazgos en el presente estudio, se inclinan a que el perfil inmunológico en los pacientes con CG del grupo estudiado es Th2, provocando un estado inmunomodulador al paciente. La utilidad del estudio del perfil inmunológico en los pacientes con CG, destacan a IL-6 e IL-10 como posibles moléculas predictoras de CG.

Se considera necesario realizar estudios que comparen los niveles plasmáticos de citocinas en pacientes que padezcan distintos grados de desarrollo de una lesión maligna: atrofia, metaplasia y displasia, para identificar la evolución de los niveles de citocinas en las etapas de desarrollo de CG y poder identificar las posibles citocinas predictoras del paso de una lesión pre-maligna a maligna. Así mismos estudios genéticos de polimorfismos de citocinas que pueden ser factores del hospedero que contribuyen al desarrollo de CG, especialmente en el grupo étnico indígena.

Contribución de los autores

Coordinación, elaboración y revisión del Documento: CIV-B, RF-B, EHL, JFM-V
 Diseño de la recolección de datos o del trabajo en campo: CIV-B, IAW,
 Recolección o contribución de datos o realización del trabajo de campo: CIV-B, RF-B
 Limpieza, sistematización, análisis o visualización de datos: CIV-B, FN, JFM-V
 Participación en análisis de datos, estructura y en la escritura del documento: CIV

Materiales suplementarios

No tiene materiales suplementarios

Referencias

- Abbasi, A., & Heydari, S. (2018). Studying the expression rate and methylation of Reprimo gene in the blood of patients suffering from gastric cancer. *European journal of Translational Myology*, 28(2), 7423. <https://doi.org/10.4081/ejtm.2018.7423>
- Alpizar-Alpizar, W., Pérez-Pérez, G. I., Une, C. P., Cuenca, & Sierra, R. (2005). Association of interleukin-1B and interleukin-1RN polymorphisms with gastric cancer in a high-risk population of Costa Rica. *Clinical Experimental Medicine*, (5), 169-176. <https://doi.org/10.1007/s10238-005-0082-3>
- Alpizar-Alpizar, W., Une C., & Sierra R. (2009). La inflamación y su papel en el desarrollo del cáncer gástrico. *Acta Médica Costarricense*, 51(2), 76-81.
- Amieva, M., & Peek, R. (2016) Pathobiology of *Helicobacter pylori*-Induced Gastric Cancer. *Gastroenterology*, 150(1), 64-78. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2015.09.004>.
- Ashizawa, T., Okada, R., Suzuki, Y., Takagi, M., Yamazaki, T., Sumi, T., Oki, T., Ohnuma, S., & Aoki, T. (2005). Clinical significance of interleukin-6 (IL-6) in the spread of gastric cancer: Role of IL-6 as a prognostic factor. *Gastric Cancer*, 8(2),124-131. <https://doi.org/10.1007/s10120-005-0315-x>.
- Bednarz-Misa, I., Diakowska, D., Szczuka, I., Fortuna, P., Kubiak, A., Rosińczuk, J., & Krzystek-Korpacka, M. (2020). Interleukins 4 and 13 and their Receptors are differently expressed in gastrointestinal tract cancers, depending on the anatomical site and disease advancement, and improve colon cancer cell viability and motility. *Cancers*, 12(6), 1463. <https://doi.org/10.3390/cancers12061463>
- Cárdenas, D. M., Sánchez, A. C., Rosas, D. A., Rivero, E., Paparoni, M. D., Cruz, M. A., Suárez, Y. P., & Galvis, N. F. (2018). Preliminary analysis of single-nucleotide polymorphisms in IL-10, IL-4, and IL-4R α genes and profile of circulating

- cytokines in patients with gastric Cancer. *BMC Gastroenterol*, 18, Article 184. <https://doi.org/10.1186/s12876-018-0913-9>
- Catalano, V., Labianca, R., Beretta, G. D., Gatta, G., Braud, F., & Cutsem, E. (2009). Gastric cancer. *Critical Review in Oncology/Hematology*, 71(2), 127-164. <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2009.01.004>
- Chiurillo, M. A. (2014). Role of gene polymorphisms in gastric cancer and its precursor lesions: Current knowledge and perspectives in Latin American countries. *World Journal of Gastroenterology*, 20(16), 4503-4515. <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i16.4503>
- Coomes, E. A., & Haghbayan, H. (2020). Interleukin-6 in Covid-19: A systematic review and meta-analysis. *Reviews in Medical Virology*, 30(6), 1-9. <https://doi.org/10.1002/rmv.2141>
- Correa, P. (1992). Human gastric carcinogenesis: A multistep and multifactorial process First American Cancer Society Award Lecture on Cancer Epidemiology and Prevention. *Cancer Research*, 52(24), 6735-6740.
- Cover, T., & Blanke, S. (2005). *Helicobacter pylori* VacA, a paradigm for toxin multifunctionality. *Nature Reviews Microbiology*, 3, 320-332. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1095>.
- Cover, T. (2016). *Helicobacter pylori* diversity and gastric cancer risk. *American Society of Microbiology*, 7(1), 1-9. <https://doi.org/10.1128/mBio.01869-15>.
- El-Omar, E. M., Carrington, M., Chow, W. H., McColl, K. E., Bream, H. J., Young, H. A., Herrera, J., Lissow, J., Youan, C., Rothman, N., Lanyon, G., Martin, M. Fraulmeni Jr., J., & Rabkin, C. S. (2000). Interleukin-1 polymorphisms associated with increased risk of gastric cancer. *Nature*, 404(6842), 398-402. <https://doi.org/10.1038/35006081>
- Epplein, M., Xiang, Y.-B., Cai, Q., Peek Jr., R. M., Li, H., Correa, P., Gao, J., Wu, J., Michel, A., Pawlita, M., Zheng, W., & Shu, X.-O. (2013). Circulating cytokines and gastric cancer risk. *Cancer Causes & Control*, 24(12), 2245-2250. <https://doi.org/10.1007/s10552-013-0284-z>
- Ferlay, J., Soerjomataram, I., Dikshit, R., Eser, S., Mathers, C., Rebelo, M., & Bray, F. (2015). Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *International Journal of Cancer*, 136(5), E359-E386. <https://doi.org/10.1002/ijc.29210>
- Fernández-Bostrán, R., Wellmann, I. A., Une, C., Méndez-Chacón, E., Hernández de Rodas, E., Bhandari, B., & Villagrán de Tercero, C. I. (2020). Seroprevalence of *Helicobacter pylori* CagA Antibodies in Guatemalan Gastric Cancer Patients: Association of Seropositivity with Increased Plasma Levels of Pepsinogens but not Soluble Urokinase Plasminogen Activator Receptor. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 103(1), 260-265. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.19-0934>
- Franceschi, C., Capri, M., Monti, D., Giunta, S., Olivieri, F., Sevini, F., Panourgia, M. P., Invidia, L., Celani, L., Scurti, M., Cevenini, E., Castellani, G. C., & Salvioli, S. (2007). Inflammaging and anti-inflammaging: A systemic perspective on aging and longevity emerged from studies in humans. *Mechanisms of Ageing and Development*, 128(1), 92-105. <https://doi.org/10.1016/j.mad.2006.11.016>
- Foran, E., Garrity-Park, M. M., Mureau, C., Newell, J., Smyrk, T. C., Limburg, P. J., & Egan, L. J. (2010). Upregulation of DNA methyltransferase-mediated gene silencing, anchorage-independent growth, and migration of colon cancer cells by interleukin-6. *Molecular Cancer Research: MCR*, 8(4), 471-481. <https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-09-0496>
- Gao, J.-F., Zhang, H. Lv, J., Wang, L., & Fan, Y.-Y. (2019). Associations of the IL-17A rs2275913 and IL-17F rs763780 polymorphisms with the risk of digestive system neoplasms: A meta-analysis. *International Immunopharmacology*, 67, 248-259. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2018.12.016>
- Hansen, S., Vollset, S. E., Derakhshan, M. H., Fyfe, V., Melby, K. K., Aase, S., Jellum, E., & McColl, K. E. (2007). Two distinct aetiologies of cardia cancer; evidence from premorbid serological markers of gastric atrophy and *Helicobacter pylori* status. *Gut*, 56(7), 918-925.
- Herrera-Goepfer, R., Zúñiga, J., Hernández-Guerrero, A., Rodríguez-Reyna, T., Osnalla, N., Ruíz-Morales, J., Vargas-Alarcón, G., Yamamoto-Furusho, J., Mohar-Betancourt, A., Hernández-Pando, R., & Granados, J., (2004). Asociación del alelo HLA-DQB1*0501 del complejo mayor

- de histocompatibilidad con cáncer gástrico en México. *Gaceta Médica de México*, 140(3), 299-303.
- Hitzler, I., Sayi, A., Kohler, E., Engler, D. B., Koch, K. N., Hardt, W.-D., & Müller, A. (2012). Caspase-1 has both proinflammatory and regulatory properties in *Helicobacter* infections, which are differentially mediated by its substrates IL-1 β and IL-18. *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)*, 188(8), 3594-3602. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1103212>
- Imai, Y., Chiba, T., Kondo, T., Kanzaki, H., Kanayama, K., Ao, J., Kojima, R., Kusakabe, Y., Nakamura, M., Saito, T., Nakagawa, R., Suzuki, E., Nakamoto, S., Muroyama, R., Tawada, A., Matsumura, T., Nakagawa, T., Kato, J., Kotani, A., ... Kato, N. (2020). Interferon- γ induced PD-L1 expression and soluble PD-L1 production in gastric cancer. *Oncology Letters*, 20(3), 2161-2168. <https://doi.org/10.3892/ol.2020.11757>
- Ju, X., Zhang, H., Zhong, Z., Chen, M., & Wang, Q. (2020). Tumor-associated macrophages induce PD-L1 expression in gastric cancer cells through IL-6 and TNF- α signaling. *Experimental Cell Research*, 396(2), 112315. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2020.112315>
- Kao, J. Y., Rathinavelu, S., Eaton, K. A., Bai, L., Zavros, Y., Takami, M., Pierzchala, A., & Merchant, J. L. (2006). *Helicobacter pylori*-secreted factors inhibit dendritic cell IL-12 secretion: a mechanism of ineffective host defense. *American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology*, 291(1), G73-G81. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00139.2005>
- Karabulut, M., Usul Afsar, C., Serimez, M., & Karabulut, S. (2019). Serum IL-17 levels can be diagnostic for gastric cancer. *Journal of B.U.ON.: Official Journal of the Balkan Union of Oncology*, 24(4), 1601-1609.
- Kulmambetova, G., Shtefanov, I., Aitkulova, A., Imanbekova, M., Iskakova, A., Makishev, A., & Ramankulov, Y. (2020). Association of polymorphisms in TP53 and the promoter region of IL10 with gastric cancer in a Kazakh population. *Bosnian journal of Basic Medical Sciences*, 20(4), 539-546. <https://doi.org/10.17305/bjbms.2020.4761>
- Landskron, G., De la Fuente, M., Thuwajit, P., Thuwajit, C., & Hermoso, M. A. (2014). Chronic inflammation and cytokines in the tumor microenvironment. *Journal of Immunology Research*, Article 19149185. <https://doi.org/10.1155/2014/149185>
- Lindholm, C., Quiding-Järbrink, M., Lönroth, H., Hamlet, A., & Svennerholm, A. M. (1998). Local cytokine response in *Helicobacter pylori*-infected subjects. *Infection and Immunity*, 66(12), 5964-5971. <https://doi.org/10.1128/IAI.66.12.5964-5971.1998>
- Long, Z.-W., Yu, H.-M., Wang, Y.-N., Liu, D., Chen, Y.-Z., Zhao, Y.-X., & Bai, L. (2015). Association of IL-17 polymorphisms with gastric cancer risk in Asian populations, *World Journal of Gastroenterology*, 21(18), 5707-5718. <https://doi.org/10.3748/wjg.v21.i18.5707>
- Malfertheiner, P., Megraud, F., O'Morain, C. A. O., Gisbert, J. P., Kuipers, E. J., Axon, A. T., Bazzoli, F., Gasbarrini, A., Atherton, J., Graham, D. Y., Hunt, R., Moayyedi, P., Rokkas, T., Rugge, M., Selgrad, M., Suerbaum, S., Sugano, K., & El-Omar, E. M. (2017). Management of *helicobacter pylori* infection-the maastricht V/Florence consensus report. *Gut*, 66(1), 6-30. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2016-312288>
- Peek, R. M., Fiske, & C., & Wilson, K. T. (2010). Role of innate immunity in *Helicobacter pylori*-induced gastric malignancy. *Physiological Reviews*, 90(3), 831-858. <https://doi.org/10.1152/physrev.00039.2009>
- Petrovich, I., & Ford, J.M. (2016). Genetic predisposition to gastric cancer. *Seminars in Oncology*, 43(5), 554-559. <https://doi.org/10.1053/j.seminoncol.2016.08.006>
- Poorolajal, J., Moradi, L., Mohammadi, Y., Cheraghi, Z., & Gohari-Ensaf, F. (2020). Risk factors for stomach cancer: A systematic review and meta-analysis. *Epidemiology and Health*, 42, Article e2020004. <https://doi.org/10.4178/epih.e2020004>
- Saavedra, H., & García Verdecia, B. (2014). Inmunosenescencia: Efectos de la edad sobre el sistema inmune. *Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia*, 30(4), 332-345.
- Sánchez-Zauco, N., Torres, J., Gómez, A., Camorlinga-Ponce, M., Muñoz-Pérez, L., Herrera-Goepfert,

- Medrano-Guzmán, Giono-Cerezo, S., & Maldonado-Bernal, C. (2017). Circulating blood levels of IL-6, IFN- γ , and IL-10 as potential diagnostic biomarkers in gastric cancer: A controlled study. *BMC Cancer*, *17*(1), Article 384. <https://doi.org/10.1186/s12885-017-3310-9>
- Shokrzadeh, M., Mohmmadpour, A., Hoseini, V., Abediankenari, S., Ghassemi-Barghin, N., & Tabari, Y. (2018). Serum cytokine of IL-2, IL-10 and IL-12 levels in patients with stomach adenocarcinoma. *Arquivos de Gastroenterologia*, *55*(4) 385-389. <https://doi.org/10.1590/s0004-2803.201800000-83>.
- Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., Bray, F. (2020) Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *Cancer Journal for Clinicians*, *71*(1), 7-33. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
- Szkaradkiewi cz, A., Karpiński, T. M., Drews, M., Borejsza-Wysocki, M., Majewski, P., Andrzejewska, E. (2010). Natural killer cell cytotoxicity and immunosuppressive cytokines (IL-10, TGF-beta1) in patients with gastric cancer. *Journal of Biomedicine & Biotechnology*, Article 901564. <https://doi.org/10.1155/2010/901564>.
- Torres, M. M., Acosta, C. P., Sicard, D. M., & Groot de Restrepo, H. (2004). Susceptibilidad genética y riesgo de cáncer gástrico en una población del Cauca. *Biomedica*, *24*(2), 153-62.
- Udomsinprasert, W., Jittikoon, J., Sangroongruangsri, S., & Chaikledkaew, U. (2021). Circulating levels of interleukin-6 and interleukin-10, but not tumor necrosis factor-Alpha, as potential biomarkers of severity and mortality for COVID-19: Systematic Review with Meta-analysis. *Journal of Clinical Immunology*, *41*(1), 11-22. <https://doi.org/10.1007/s10875-020-00899-z>
- Vahid, F., & Davoodi, S. H. (2021). Nutritional Factors Involved in the Etiology of Gastric Cancer: A Systematic Review. *Nutrition and Cancer*, *73*(3), 376-390. <https://doi.org/10.1080/01635581.2020.1756353>
- van den Engel, N. K., Winter, H., Rüttinger, D., Shau, I., Schiller, M., Mayer, B., Moudgil, T., Meimarakis, G., Stolte, M., Jauch, K. W., Fox, B. A., & Hatz, R. A. (2006). Characterization of immune responses in gastric cancer patients: A possible impact of *H. pylori* to polarize a tumor-specific type 1 response? *Clinical Immunology*, *120*(3), 285-296. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2006.04.566>
- Wellmann, I. A., Villagrán, C. I., Fernández-Bostrán R., Hernández, E., & Une, C. (2018). Valor diagnóstico de las proteínas uPAR en sangre para el cáncer gástrico en Guatemala. *Ciencia Tecnología y Salud*, *5*(1), 43-53. <https://doi.org/10.36829/63CTS.v3i2.341>
- Zhai, Z., Zhu, Z.-Y., Zhang, Y., Yin, X., Han, B.-L., Gao, J.-L., Lou, S.-H., Fang, T.-Y., Wang, Y.-M., Li, C.-F., Yu, X.-F., Ma, Y., & Xue, Y.-W. (2020). Prognostic significance of Borrmann type combined with vessel invasion status in advanced gastric cancer. *World Journal of Gastrointestinal Oncology*, *12*(9), 992-1004. <https://doi.org/10.4251/wjgo.v12.i9.992>
- Zhang, W.-H., Wang, X.-L., Zhou, J., An, L.-Z., Xie, X.-D. (2005). Association of interleukin-1B (IL-1B) gene polymorphisms with risk of gastric cancer in Chinese population. *Cytokine*, *30*(6), 378-381. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2005.02.002>
- Zhao, S., Wu, D., Wu, P., Wang, Z., & Huang, J. (2015). Serum IL-10 Predicts Worse Outcome in Cancer Patients: A Meta-Analysis. *PLoS ONE*, *10*(10), Article e0139598. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0139598>
- Zhou, X., Zhu, H., Zhu, C., Lin, K., Cai, Q., Li, Z., & Du, Y. (2020). *Helicobacter pylori* infection and serum pepsinogen level with the risk of gastric Precancerous Conditions: A Cross-sectional study of high-risk gastric cancer population in China. *Journal of Clinical Gastroenterology*, *55*(9), 778-784. <https://doi.org/10.1097/MCG.0000000000001444>
- Zou, Z., Zhao, L., Su, S., Liu, Q., Yu, L., Wei, J., Yang, Y., Juan, D., Jie, S., Xiaoping, Q., Xiangshan, F., Wenxian, G., Baorui, L., (2018). The plasma levels of 12 cytokines and growth factors in patients with gastric cancer. *Medicine (Baltimore)*, *97*(19), Article e0413. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000010413>