



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE MEDICINA

SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y ESTUDIOS DE POSGRADOS

MAESTRÍA EN CIENCIAS MÉDICAS E INVESTIGACIÓN

TESIS

**“Evaluación del perfil de proteínas y concentración de Inmunoglobulinas en
los pacientes con cáncer gástrico estadio III y IV y sujetos sanos”**

Que para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS MÉDICAS E INVESTIGACIÓN

Presenta:

Magno Edén Pineda Téllez

Directores de Tesis:

DC. María Alicia Díaz y Orea

DC. Eduardo Gómez Conde

Puebla de Zaragoza, Pue.

03 de diciembre de 2018.

Directores de tesis

DC. María Alicia Díaz y Orea

DC. Eduardo Gómez Conde

DC. María Elena Cárdenas Perea

DC. Irma Zamora Ginez

(Coordinadora de la Maestría en Ciencias Medicas e Investigación)

Comité tutorial

DC. Roberto Berra Romani

DC. Julio Roberto Reyes Leyva

DC. Teresita Romero Ogawa

Agradecimientos

A el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Conacyt) por la beca número:

Dedicatoria

Índice

| | |
|--|----|
| Resumen..... | 1 |
| Capítulo 1..... | 2 |
| 1.1 Cáncer..... | 2 |
| 1.1.2 Cáncer gástrico..... | 2 |
| 1.1.3 Epidemiología..... | 3 |
| 1.1.4 Factores de riesgo..... | 4 |
| 1.1.5 Diagnóstico..... | 5 |
| 1.1.6 Tratamiento..... | 6 |
| 1.1.7 Alteraciones en el sistema inmunológico y el cáncer..... | 6 |
| 1.2 Antecedentes específicos..... | 8 |
| Capítulo 2..... | 10 |
| 2.1 Justificación..... | 10 |
| 2.2 Planteamiento del problema..... | 11 |
| 2.3 Hipótesis..... | 12 |
| 2.4 Objetivo general..... | 12 |
| 2.5 Objetivos específicos..... | 12 |
| Capítulo 3..... | 13 |
| 3.1 Metodología..... | 13 |
| 3.1.1 Población de estudio..... | 13 |
| 3.1.2 Definición de variables..... | 13 |
| 3.1.3 Definición de la población de estudio..... | 14 |
| 3.1.4 Criterios de selección..... | 14 |
| 3.1.5 Criterios de inclusión..... | 14 |
| 3.1.6 Criterios de exclusión..... | 14 |
| 3.1.7 Grupos de estudio..... | 14 |
| 3.1.8 Ubicación espacio temporal..... | 15 |
| 3.1.9 Estrategia de trabajo..... | 15 |
| 3.1.10 Muestreo y tamaño de la muestra..... | 15 |
| 3.1.11 Técnicas y procedimientos..... | 15 |

| | |
|--|----|
| 3.1.12 Método de Biuret | 15 |
| 3.1.13 Electroforesis de proteínas de suero en acetato de celulosa | 16 |
| 3.1.14 ELISA indirecto..... | 17 |
| 3.2.1 Análisis estadístico | 19 |
| Capítulo 4..... | 20 |
| 4.1 Resultados | 20 |
| 4.2 Discusión..... | 28 |
| 4.3 Conclusión..... | 31 |
| Bibliografía | 32 |
| Anexos | 38 |

Resumen

Antecedentes: El cáncer gástrico (CG) es una enfermedad con un pronóstico poco alentador, ya que se necesita ser detectado en las primeras etapas de la enfermedad para que tenga un buen pronóstico, sin embargo, el uso de biomarcadores séricos como las proteínas involucradas durante la tumoración o las inmunoglobulinas que se están empleando para hacer un pronóstico más certero de la enfermedad y dar una terapia inmunológica a los pacientes.

Objetivo: Evaluar el perfil de proteínas y la concentración de Inmunoglobulinas en los pacientes con cáncer gástrico estadio III y IV y sujetos sanos.

Material y métodos: La población de sujetos estudiada fue pacientes con CG en el estadio III y IV, a los cuales se les evaluó la concentración de proteínas séricas con la técnica de electroforesis y las inmunoglobulinas: IgM, IgG e IgA que fueron evaluadas con ELISA.

Resultados: Los resultados mostraron una disminución de las concentraciones proteicas en los pacientes con CG en el estadio III y IV, y también se encontró disminuida la concentración de IgM en los pacientes en el estado IV.

Conclusiones: Con este estudio se determino la importancia que tiene la concentración de proteínas séricas y la IgM en el CG.

Palabras claves: Cáncer gástrico, sistema inmune, proteínas séricas tumorales, inmunoglobulinas

Capítulo 1

1.1 Cáncer

El cáncer es una enfermedad crónica que se caracteriza por la pérdida en el control de la división celular, la cual puede o no invadir otros tejidos, produciendo inflamación y falla de los órganos involucrados, causando finalmente la muerte (1). Actualmente la única alternativa terapéutica para la mayoría de los cánceres es la detección precoz *in situ* y resección quirúrgica ampliada de la lesión u órgano completo involucrado, sin embargo, la mayoría son detectados en estadios avanzados en los que solo se pueden realizar terapias muy agresivas como la quimioterapia con resultados poco alentadores o terapias únicamente paliativas (2).

1.1.2 Cáncer gástrico

El cáncer gástrico (CG) es un tumor de tipo maligno que se clasifica de acuerdo con su histología por cáncer gástrico difuso o intestinal (3). Lauren realizó una clasificación de tipo histológica, en la cual tomo en cuenta la epidemiológica y el tipo de cáncer (4). El cáncer difuso Intestinal: se asocia con gastritis crónica atrófica, metaplasia, displasia y cambios en el tejido. Relacionado más estrechamente con cambios en los factores ambientales, en hombres con estados de aclorhidria, es frecuente su expansión hematológica (5). En el caso del cáncer gástrico difuso carecen de una estructura glandular, es infiltrativo y mal diferenciado con células de anillo en sello, son di-cohesivas. Generalmente se presenta con mayor cantidad en pacientes jóvenes, de manera difusa, en su mayoría con antecedentes heredo

familiares, sangre tipo A, se asocian más frecuentemente con una expansión transmural o linfática (6).

1.1.3 Epidemiología

El CG es la segunda causa de mortalidad en el mundo con un 10.4% y es el cuarto cáncer más frecuente a nivel mundial. Cada año hay 900,000 nuevos casos y 700,000 muertes por este tipo de patologías (1,7). Las tasas de incidencia de cáncer gástrico varían enormemente entre hombres y mujeres y en diferentes países, estas son de 2 a 3 veces más altas respectivamente (3). El CG distal predomina en países en desarrollo y grupos de bajo nivel socioeconómico, mientras que el CG proximal predomina en países desarrollados y de alto nivel socioeconómico, la incidencia de ambas se ha incrementado en los últimos años, principalmente en países occidentales (5). El CG tiene distribución geográfica heterogénea, sin embargo, 2/3 del total de casos pertenece a países en vías de desarrollo y a grupos de bajo nivel socioeconómico, y por otro lado a incrementado en los últimos años principalmente en países occidentales (8). Existe una controversia factible en cuanto a la explicación de la distribución geográfica, ya que el bajo nivel socioeconómico influya en la exposición a un factor de riesgo ambiental, probablemente alimentario, en las primeras etapas de la vida, pues se ha visto en estudios de migración que cuando personas de áreas de alto riesgo migran a áreas de menor riesgo, conservan el (9)mismo riesgo, sin embargo, su descendencia muestra una disminución en el riesgo (6). De acuerdo con el reporte histopatológico nacional de neoplasias malignas del año 2001 en México, el cáncer gástrico concentró el 9% de las muertes por cáncer, esto registró una tasa de 5 defunciones por 100,000 habitantes en toda

la población y afecto en 4% a la población masculina en todos los grupos de edad (10). En el año 2000 fue el quinto cáncer más frecuente en la población general concentrando 3% de los casos de cáncer diagnosticados con 3 casos registrados por 100,000 habitantes (11). La detección del adenocarcinoma gástrico tiene un pico de incidencia entre los 50-70 años. La incidencia en hombres es el doble que en las mujeres (5).

1.1.4 Factores de riesgo

El CG es una enfermedad multifactorial que a la fecha se han identificado diversos factores de riesgo como: genéticos, ambientales y ocupacionales. Los factores genéticos incluyen una historia familiar de cáncer gástrico, y los factores ambientales incluyen el bajo consumo de frutas y hortalizas; consumo de alimentos salados, ahumados o conservados deficientemente, el tabaquismo y la exposición a la radiación (4)

Además entre estos factores se han incluido aquellos que derivan de otras patologías como: la sobrepoblación bacteriana que producen nitritos cancerígenos, gastritis crónica, disminución en la secreción ácida gástrica, atrofia gástrica y finalmente metaplasia intestinal y cáncer (12). La infección bacteriana más conocida que produce cáncer a nivel gástrico es *Helicobacter pylori*, en ella se han realizado numerosos estudios clínicos, inmunológicos y moleculares asociados a esta patología causada por este agente (12–15). Existen pruebas consistentes de que la infección estomacal por *Helicobacter pylori*, está fuertemente asociada con la iniciación y promoción de carcinoma del cuerpo y antro gástrico y el linfoma gástrico (15). La Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer, clasifica la infección

por *Helicobacter pylori* como causa de carcinoma gástrico y linfoma MALT (linfoma de tejido linfoide asociado a mucosa) es decir, un grupo 1 carcinógeno humano (14). La adhesión de *Helicobacter pylori* a la capa mucosa del estómago produce amoniaco (transforma los nitratos en nitrosaminas, siendo estos últimos de los mayores carcinógenos). La migración y proliferación de *Helicobacter. pylori* al foco de infección, se desarrolla posteriormente en una ulceración gástrica con destrucción de la mucosa, inflamación y muerte de las células mucosas (12) . Si la infección por *Helicobacter pylori* se le suma el componente genético, la ausencia de la proteína p53 y el excesivo consumo de condimentos, azúcares y baja ingesta de fibra las posibilidades para el desarrollo del CG son mayores (13).

Entre los individuos que cuentan con mayor riesgo para desarrollar cáncer de estómago se incluyen los pacientes ancianos, pacientes con gastritis atrófica o anemia perniciosa, con edemas gástricos esporádicos, la poliposis adenomatosa familiar, o cáncer de colon hereditario sin poliposis y las poblaciones étnicas de inmigrantes procedentes de países con altas tasas de carcinoma gástrico (2,16)

1.1.5 Diagnóstico

En estadios tempranos del CG se tiene posibilidades de ser tratado y curarse, sin embargo suele ser asintomático y la mayoría de las veces es detectado en estadios avanzados, siendo las manifestaciones clínicas más frecuentes el dolor abdominal y la pérdida de peso (17). En países con alta incidencia de adenocarcinoma gástrico, como los orientales, están indicados los métodos de cribado como la fotofluorografía y endoscopia, sin embargo, presentan el inconveniente de tener un alto costo (18).

1.1.6 Tratamiento

El cáncer gástrico tiene opciones de tratamiento limitadas en el contexto localmente avanzado y metastásico, con una resistencia a la quimioterapia que limita la eficacia más allá del entorno de primera o segunda línea con la excepción de trastuzumab y Ramucitumab, los resultados de los ensayos clínicos que utilizan agentes dirigidos han sido decepcionantes (19).). La cirugía es la estrategia más efectiva contra el cáncer gástrico, sin embargo, su respuesta al estrés inducida por la cirugía se manifiesta principalmente por respuesta sistémica inflamatoria e inmune, lo que reduce la función inmune postoperatoria o la fatiga (20).

1.1.7 Alteraciones en el sistema inmunológico y el cáncer

La idea de que el sistema inmunitario tiene la capacidad de eliminar células tumorales fue propuesta hace más de 100 años por Paul Erlich. Posteriormente, debido al mayor conocimiento del sistema inmunitario y a la demostración de la existencia de antígenos tumorales, resurgió el concepto del control inmunitario del cáncer por Burnet y Thomas que introdujeron la hipótesis de la inmunovigilancia tumoral, concepto que sostiene que la inmunidad previene el desarrollo de cáncer en un huésped inmunocompetente, actuando como un supresor extrínseco del tumor (21). Las células premalignas y malignas expresan antígenos específicos (moléculas antigénicas específicas del tumor) o antígenos asociados al tumor (moléculas expresadas de forma diferente por células tumorales y células normales). Estos antígenos tumorales pueden ser reconocidos y procesados por células presentadoras de antígenos (CPA) y presentados a linfocitos T que eliminan estas células malignas (22). Sin embargo, a pesar de la inmunovigilancia tumoral,

algunas células tumorales pueden escapar a la respuesta inmunitaria y desarrollar tumores que coexisten con un sistema inmunitario activo que incluso, y paradójicamente, puede favorecer su crecimiento y modular su inmunogenicidad («editar el tumor»). La noción de que el sistema inmunitario puede proteger al huésped del desarrollo de cáncer incluye 3 fases secuenciales: eliminación, equilibrio y escape. En la fase de eliminación: el sistema inmunitario innato y el adaptativo detectan y destruyen células transformadas mucho antes de que el tumor sea clínicamente evidente. Mediante mediadores que actúan como «señales de peligro», como interferón tipo 1 que es inducido precozmente por células tumorales. Estas citoquinas activan las CPA y promueven la acción de linfocitos T, CD4+, Helper y CD8+ citotóxicos, que son los principales efectores de la inmunidad adaptativa antitumoral (5). Si la eliminación de las células transformadas es completa, el huésped permanece libre de tumor, pero si es incompleta, las células tumorales no destruidas inician una fase de equilibrio, en la cual el sistema inmunitario adaptativo previene el crecimiento tumoral manteniendo a las células tumorales residuales en estado de latencia, pudiendo residir en el huésped por décadas sin causar enfermedad. En esta etapa, como consecuencia de la presión selectiva constante de la inmunidad adaptativa sobre células genéticamente inestables, emergen variantes celulares «editadas» que son: a) menos inmunogénicas y, por lo tanto, menos sensibles a los detectores y efectores inmunes, y b) inducen un estado local y sistémico de inmunosupresión antitumoral a través de una gran variedad de mecanismos asociados al proceso inflamatorio crónico causado por el mismo cáncer y conocidos como mecanismos de escape tumoral (17). En la fase de escape, la proliferación, la progresión y la diseminación

del tumor no pueden ser bloqueadas por el sistema inmunitario y el cáncer se transforma en enfermedad clínicamente evidente. Las estrategias que emplean los tumores para establecer un ambiente de inmunoprivilegio local y sistémico son variadas y complejas. Entre otras se incluyen la alteración de los mecanismos de presentación de antígenos tumorales, la elaboración de factores inmunosupresores como el factor de crecimiento transformante β (TGF- β) y el ligando FAS soluble, expansión de linfocitos T reguladores (Treg), defectos de la señalización proximal del receptor del linfocito T (TCR) por disminución de la expresión de la subunidad zeta (TCR ζ) y una profunda alteración de la mielopoiesis que se traduce en defectos de las CPA, principalmente las células dendríticas, y acumulación de las células supresoras derivadas mieloides (MDSC) (21).

1.2 Antecedentes específicos

La respuesta inmune innata puede emplear células como las natural killer (NK), macrófagos y eosinófilos o las células del sistema inmune adaptativo como las CD8 + y células CD4 +. La respuesta se inicia cuando se induce a las células citotóxicas especializadas para reconocer y atacar directamente a las células tumorales basándose en la expresión de antígenos en la superficie de las células tumorales denominadas antígenos de rechazo de tumores (17). . Los antígenos de rechazo de tumores son péptidos de proteínas de células tumorales que son reconocidos por el sistema inmunológico cuando se presentan a las células T por moléculas del complejo principal de histocompatibilidad (MHC) (4). Estos péptidos luego se convierten en los objetivos de una respuesta de células T específicas de tumores.

La estrategia real requiere tanto la elección del péptido objetivo como los monocitos para la terapia (es decir, el éxito requiere la identificación de un objetivo y una estrategia para atacar ese objetivo) (19).). Existe la posibilidad de que cualquier intento de inmunoterapia contra un tumor también ataque los tejidos normales no tumorales. Por lo tanto, la inmunoterapia clínicamente exitosa debe ser capaz de pasar la delicada línea entre atacar el tumor y hacer un daño mínimo a los tejidos normales (23). El primer ensayo clínico utilizado en humanos utilizó células asesinas activadas por linfocitos. En ese estudio, los pacientes con melanoma metastásico fueron tratados con la combinación de células asesinas activadas por linfocinas y se utilizó interleucina 2 (IL-2) para asegurar la supervivencia y la activación sostenida de las células asesinas activadas por linfocinas infundidas (24). La IL-2 es una citocina producida por linfocitos T humanos que es necesaria para el crecimiento, proliferación y diferenciación de las células T para convertirse en células T efectoras y fue aprobada para el tratamiento del melanoma metastásico (7). La inmunoterapia con interleucinas ha proporcionado resultados prometedores en estudios preclínicos en sarcoma y adenocarcinoma de colon (25). Un estudio clínico de inmunoterapia adoptiva con linfocitos asociados a tumores en combinación con quimioterapia en cáncer gástrico resultó en una supervivencia más larga del 50% con la combinación de inmunoterapia y quimioterapia que con quimioterapia sola (26).

Capítulo 2.

2.1 Justificación

El cáncer gástrico es un problema de salud pública a nivel mundial por su alta incidencia y morbimortalidad tanto en países subdesarrollados como desarrollados. Este problema es reflejo de la carencia de métodos de detección temprana de la enfermedad que sean accesibles a la población general por lo que suele detectarse en estadios avanzados cuando no es posible realizar medidas terapéuticas curativas.

En los últimos años grandes avances se han hecho en el estudio del sistema inmunológico y su interacción con las células tumorales. Se han descubierto diversos mecanismos por los que los tumores malignos logran evadir la respuesta inmunológica, entre ellos bloqueos en la presentación de antígenos por el MHC, inhibición de células presentadoras de antígeno y de linfocitos T, o por la inducción de anticuerpos, por antígenos propios del tumor, lo que redundaría en una inmunosupresión del paciente.

2.2 Planteamiento del problema

Los mecanismos de reparación celular están alterados por múltiples factores, por tal razón, se han realizado numerosos estudios clínicos, inmunológicos y moleculares encaminados a buscar la mejoría de los pacientes que padecen CG. Sin embargo, las terapias tradicionales no han tenido el efecto deseado pues aún siguen siendo insuficientes cuando el paciente se encuentra en estadios avanzados de la enfermedad.

Las células tumorales tienen mecanismos para modificar su microambiente y evadir o crear tolerancia a la respuesta inmunológica dirigida contra estas, incluso pueden llegar a utilizar al sistema inmunológico a su favor. Se ha visto que en pacientes con compromiso inmunológico incrementan la incidencia de muchos tumores cancerígenos. Por tal motivo en este estudio evaluaremos el perfil de proteínas y la concentración de inmunoglobulinas para determinar el grado de evasión de la respuesta inmunológica humoral por la célula tumoral.

Con base en lo antes mencionado surge la pregunta científica:

¿Existen diferencias entre el perfil de proteínas y la concentración de inmunoglobulinas séricas en pacientes con cáncer gástrico estadio III y IV y sujetos sanos?

2.3 Hipótesis

Los pacientes con cáncer gástrico estadio III y IV y los sujetos sanos presentan diferencias en el perfil de proteínas y una concentración de inmunoglobulinas sericas.

2.4 Objetivo general

Evaluar el perfil de proteínas y la concentración de Inmunoglobulinas en los pacientes con cáncer gástrico estadio III y IV y sujetos sanos.

2.5 Objetivos específicos

- 1.Determinar la concentración de proteínas totales en los pacientes con cáncer gástrico estadio III y IV y sujetos sanos.
- 2.Determinar las fracciones proteicas presentes en los sueros de los pacientes con cáncer gástrico estadio III y IV y sujetos sanos.
- 3.Determinar la concentración de Inmunoglobulinas presentes en los sueros de los pacientes con cáncer gástrico estadio III y IV y sujetos sanos.

Capítulo 3

3.1 Metodología

3.1.1 Población de estudio

Pacientes con diagnóstico de Adenocarcinoma Gástrico, ambos sexos en un límite de edad entre 20 y 65 años de edad y sujetos sanos, ambos sexos con los mismos límites de edad.

3.1.2 Definición de variables

| Variable | Definición conceptual | Definición operacional | Escala de Medición | Unidades de Escala |
|------------------------------------|---|-------------------------------|-----------------------|------------------------|
| Edad | Edad que refiere el sujeto en el momento del estudio. | Años cumplidos | Cuantitativa discreta | Años |
| Género | Características fenotípicas del individuo | Hombre Mujer | Cualitativa nominal | Masculino Femenino |
| Concentración de proteínas totales | Cantidad total de dos clases de proteínas encontradas en la porción líquida de la sangre: albúmina y globulina. | Proteínas totales Albúmina | Cuantitativa continua | Concentración en g/dl |
| Concentración perfil de proteínas | Componentes de las fracciones y su concentración | Fracciones proteicas en suero | Cuantitativa continua | Concentración en g/dl |
| Concentración inmunoglobulinas | Inmunoglobulinas, o anticuerpos, en la sangre. | IgG IgA IgM | Cuantitativa continua | Concentración en mg/dl |

3.1.3 Definición de la población de estudio

3.1.4 Criterios de selección

Se seleccionaron pacientes del servicio de Gastrocirugía de la Unidad Médica de Alta Especialidad “Manuel Ávila Camacho” del Instituto Mexicano del Seguro Social. Con un límite de edad de entre 20-65 años, de ambos sexos con el diagnóstico histopatológico de adenocarcinoma gástrico III y IV.

3.1.5 Criterios de inclusión

Se incluyeron pacientes con criterios de selección y sujetos sanos, ambos sexos, con un intervalo de edad de 20-65 años

3.1.6 Criterios de exclusión

Pacientes con diagnóstico reciente de Diabetes Mellitus.

Pacientes con diagnóstico reciente de enfermedad autoinmune.

Pacientes con tratamiento quimioterapia o radioterapia.

Sueros de pacientes hemolizados o lipémicos

Se excluyen a estos pacientes debido, que el estudio es inmunológico, por tal motivo las patologías y los tratamientos van a inducir cambios en la respuesta inmunológica de los pacientes.

3.1.7 Grupos de estudio

Pacientes que contarán con el diagnóstico de adenocarcinoma gástrico en estadio III y IV, ambos sexos con un rango de edad entre 20-65 años.

Sujetos sanos (comprobado por Western Blot que no presenten anticuerpos contra antígenos de secreción tumoral gástricos) ambos sexos.

3.1.8 Ubicación espacio temporal

El estudio se desarrolló en la Unidad Médica de Alta Especialidad “Manuel Ávila Camacho” del Instituto Mexicano del Seguro Social, y en el laboratorio de Inmunología Experimental de la Facultad de Medicina de la BUAP, durante el periodo comprendido entre agosto del 2016 y julio del 2018.

3.1.9 Estrategia de trabajo

3.1.10 Muestreo y tamaño de la muestra

El tamaño de la muestra será de 88 pacientes obtenido al comparar tres proporciones con un $\alpha = 0.05$ y $\beta = 0.10$, el cálculo se realizó con el Software *Sample size*.

3.1.11 Técnicas y procedimientos

Se determinó la concentración de proteínas totales en los pacientes con cáncer gástrico estadio III y IV y sujetos sanos por espectrofotometría por la técnica de *Biuret*.

3.1.12 Método de Biuret

El nombre de la reacción procede del compuesto coloreado formado por la condensación de dos moléculas de urea con eliminación de amoníaco, por lo tanto, detecta la presencia de compuestos con dos o más enlaces peptídicos y sirve para todas las proteínas y péptidos cortos.

Al formar complejos los iones cúpricos con los enlaces peptídicos de las proteínas se produce un color violeta-morado bajo condiciones alcalinas. La absorbancia del color producido es leída a 540 nm. La intensidad del color (absorbancia) es proporcional al contenido proteico de la muestra. Esto permite la determinación de proteínas totales. El fraccionamiento salino separa la albúmina de las globulinas.

Es importante elaborar una curva estándar de concentración y comparar la absorbancia utilizando albúmina de suero de bovino (BSA) o de un estándar para la comparación con la muestra bajo estudio.

3.1.13 Electroforesis de proteínas de suero en acetato de celulosa

Se determinaron las fracciones proteicas presentes en los sueros de los pacientes con cáncer gástrico estadio III y IV y sujetos sanos por electroforesis en acetato de celulosa.

La electroforesis es una técnica basada en los movimientos de moléculas cargadas en un campo eléctrico, cada molécula se mueve hacia el electrodo de carga opuesta (cátodo y ánodo), este movimiento denominado “electroforesis” da nombre a la técnica. En el transporte electroforético, a la fuerza del campo eléctrico se opone la resistencia viscosa del medio, produciéndose, cuando se igualan una velocidad constante de desplazamiento de las partículas. En resumen, puede decirse que cuando una molécula cargada se coloca en un campo eléctrico se moverá hacia uno u otro electrodo dependiendo de: 1) su carga eléctrica, 2) su tamaño, 3) la intensidad del campo eléctrico y 4) la temperatura del medio.

La electroforesis se aplica en el campo de la Bioquímica a la separación de compuestos que poseen grupos ionizables (aminoácidos, péptidos, proteínas, ácidos nucleicos) teniendo en cuenta que la carga neta de estas sustancias depende del pH del medio en que se encuentren. Si la molécula tiene carga positiva migrará hacia el cátodo y si tiene carga negativa, hacia el ánodo. La fuerza iónica de la solución tampón tiene una importancia fundamental en la electroforesis, puesto que cuando es baja, permite velocidades de migración de los solutos más rápidas y con menor desprendimiento de calor.

3.1.14 ELISA indirecto

Se determinará la concentración de inmunoglobulinas presentes en los sueros de los pacientes con cáncer gástrico estadio III y IV y sujetos sanos por la técnica de ELISA se basa en el uso de antígenos o anticuerpos marcados con una enzima, de forma que los conjugados resultantes tengan actividad tanto inmunológica como enzimática. Al estar uno de los componentes (antígeno o anticuerpo) marcado con una enzima e insolubilizado sobre un soporte (inmunoadsorbente) la reacción antígeno-anticuerpo quedará inmovilizada y, por tanto, será fácilmente revelada mediante la adición de un substrato específico que al actuar la enzima producirá un color observable a simple vista o cuantificable mediante el uso de un espectrofotómetro o un colorímetro.

El ELISA Indirecto. Consta de las siguientes etapas:

- Fijación al soporte insoluble de antígenos específicos para los anticuerpos objeto de estudio. Lavado para eliminar los antígenos fijados deficientemente o no fijados.
- Adición del suero problema, de tal forma que sus anticuerpos reaccionarán específicamente con los antígenos fijados al soporte. Lavado para eliminar los anticuerpos marcados que no hayan reaccionado.
- Adición de anti-anticuerpos conjugados con una enzima, los cuales reaccionan con los anticuerpos específicos añadidos en el paso anterior y que se encuentran fijados a los antígenos. Lavado para eliminar los anti-anticuerpos marcados que no hayan reaccionado.
- Adición de un substrato sobre el que sea capaz de actuar la enzima marcadora. Se puede parar la reacción si se desea
- . • Lectura visual o colorimétrica del producto final coloreado.

Los ELISA (ensayos inmunoabsorbentes ligados a enzimas) se utilizan rutinariamente para la evaluación cualitativa y cuantitativa de citocinas, quimiocinas, factores de crecimiento, dianas fosforiladas, inmunoglobulinas y otros marcadores inmunológicos. La detección y cuantificación de analitos proteicos de diversas muestras biológicas suero, plasma, sobrenadantes de cultivos celulares y lisados celulares- indican una multitud de eventos biológicos y patológicos. Los ELISA han demostrado ser herramientas valiosas en el desarrollo de fármacos, ya que se usan

comúnmente para el perfilamiento de biomarcadores de la enfermedad frente a estados normales, así como para el perfilado de toxicidad.

Se utilizó el kits ELISA (Ebioscience) y se seguirán las instrucciones del proveedor.

3.2.1 Análisis estadístico

Se realizó un análisis estadístico descriptivo con las variables nominales por porcentajes, promedio, desviación estándar y grafica de porcentaje.

Con las variables ordinales y numéricas se realizará un estudio paramétrico de comparación con prueba de ANOVA, utilizando programa estadístico SPSS versión

22.

Capítulo 4.

4.1 Resultados

En este estudio se evaluó el perfil de proteínas totales, la concentración de IgM, IgG e IgA en los sujetos con diagnóstico de cáncer gástrico en el estadio III y IV y sujetos sanos que fueron los controles. En este estudio participaron un total de 153 sujetos de los cuales 74 fueron controles y 73 fueron sujetos con cáncer gástrico, éstos fueron divididos en pacientes con cáncer de tipo difuso en estadio II (n=6), en el estadio III (n=7) y de estadio IV (n=66). Durante el estudio se registró 1 sujeto de cáncer intestinal en estadio III y 19 sujetos con cáncer intestinal en estadio IV. Además de este análisis también se registraron 77 sujetos del sexo masculino y 78 sujetos del sexo femenino (Tabla.1.).

Tabla 1. Análisis sociodemográfico de la población estudiada de sujetos control y sujetos con cáncer

| | | Control n=74 | Cáncer | |
|-------------|---------------------|-----------------|--------------------|--------------------|
| | | | Estadio III n=7 | Estadio IV n=66 |
| Sexo | Masculinos | 36 | 3 | 34 |
| | Femeninos | 38 | 4 | 32 |
| Tipo | Difuso | 0 | 6 | 46 |
| | Intestinal | 0 | 1 | 19 |
| | Poco | 0 | 0 | 1 |
| | diferenciado | | | |

Se analizó la edad promedio de los sujetos control que fue de 37.32 ± 14.46 años y de los pacientes con cáncer fue de 54.88 ± 12.17 años, en el análisis se determinó que no hubo diferencias significativas ($p=0.510$ (Figura.1).

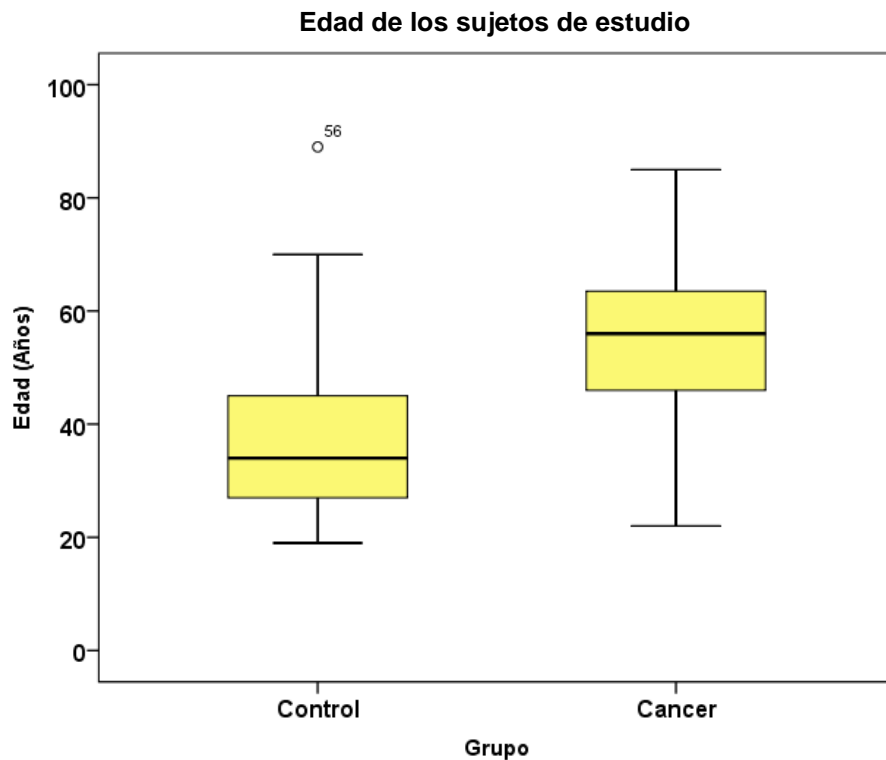


Figura 1. La edad promedio en años de los sujetos en el grupo control fue de 37.32 ± 14.46 años y de los sujetos con cáncer gástrico 54.88 ± 12.17 años. Estos dos grupos fueron análisis con t-Student,, $p > 0.05$ sin significancia.

Los promedios obtenidos de las proteínas totales en los sujetos con cáncer difuso en el estadio III fue 6.32 ± 1.73 $\mu\text{g/dL}$, en el estadio IV fue de $6,62 \pm 2.09$ $\mu\text{g/dL}$ y el grupo control fue de 7.85 ± 0.95 $\mu\text{g/dL}$. Se obtuvo una diferencia significativa entre el grupo control y el estadio III de $p= 0.049$, y el grupo control con el estadio IV con una diferencia significativa de $p < 0.05$ (Figura.2.).

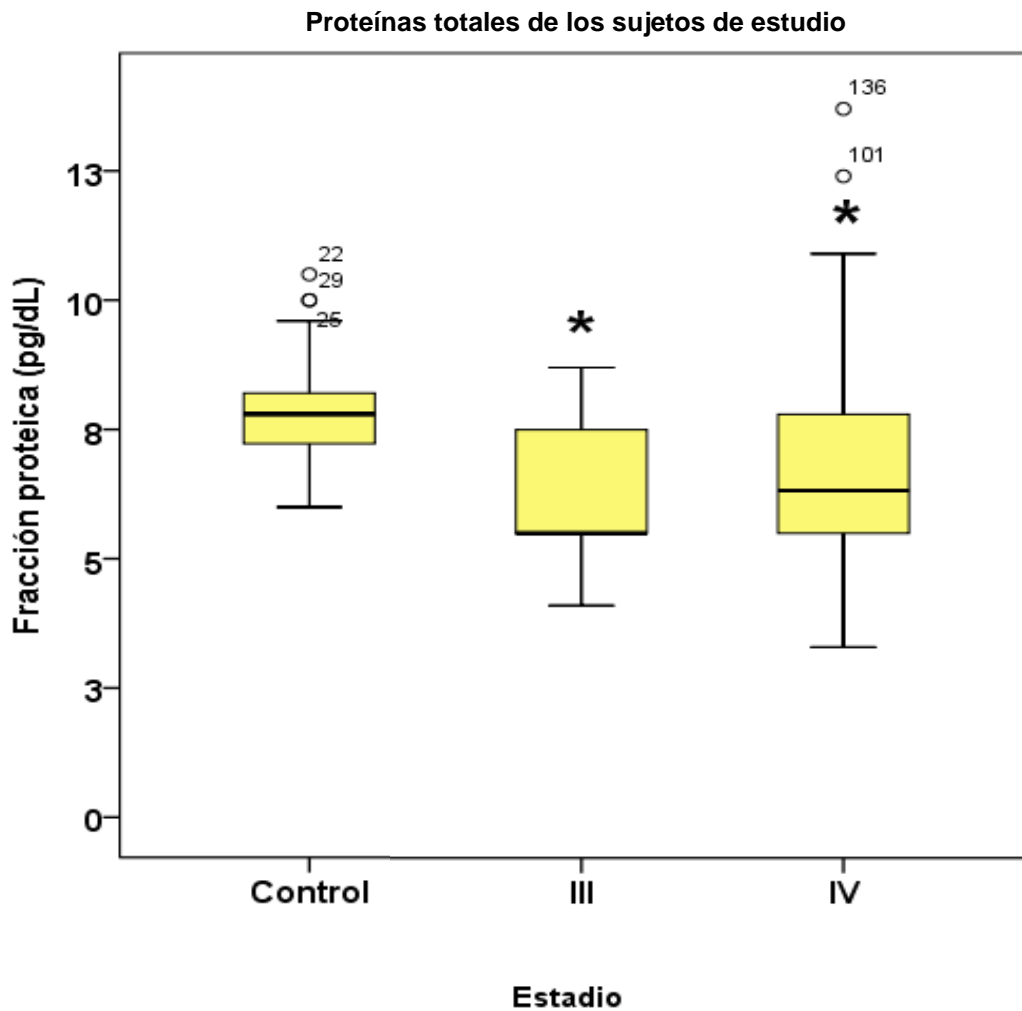


Figura 2. Fracción proteica obtenidas por electroforesis en acetato de celulosa de sujetos con cáncer difuso e intestinal en el estadio III, IV y grupo control. Se obtuvo una diferencia significativa entre el grupo control y el estadio III y el grupo control con el estadio IV, $p=0.049^*$, $p<0.05^{**}$. Se analizó con ANOVA y una prueba post hoc de Dunnet (bilateral).

Se cuantificaron por electroforesis un total de cinco fracciones proteicas: albumina, alfa-1, alfa-2, Beta y Gama. El promedio de la albumina en el grupo control fue de 4.51 ± 1.04 pg/dL, en el grupo de pacientes con cáncer en el estadio III fue de 3.46 ± 0.69 pg/dL, $p=0.014^*$ y en el grupo de pacientes con cáncer en estadio IV fue

de 3.66 ± 1.32 pg/dL, $p=0.001^{**}$. El promedio de la fracción alfa-1 en el grupo control fue de 0.44 ± 0.39 pg/dL, en el grupo de pacientes con cáncer en el estadio III fue de 0.18 ± 0.15 pg/dL, $p=0.002^{**}$ y en el grupo de pacientes con cáncer en estadio IV fue de 0.16 ± 0.15 pg/dL, $p=0.000^{**}$. El promedio de la fracción alfa-2 en el grupo control fue de 0.88 ± 0.83 pg/dL, en el grupo de pacientes con cáncer en el estadio III fue de 0.67 ± 0.17 pg/dL, $p=0.347$ y en el grupo de pacientes con cáncer en estadio IV fue de 0.52 ± 0.22 pg/dL, $p=0.001^{**}$. El promedio de la fracción Beta en el grupo control fue de 1.02 ± 0.21 pg/dL, en el grupo de pacientes con cáncer en el estadio III fue de 0.59 ± 0.22 pg/dL, $p=0.000^{**}$ y en el grupo de pacientes con cáncer en estadio IV fue de 0.53 ± 0.25 pg/dL, $p=0.000^{**}$. El promedio de la fracción gama en el grupo control fue de 1.24 ± 0.30 pg/dL, en el grupo de pacientes con cáncer en el estadio III fue de 1.07 ± 0.53 pg/dL, $p=0.745$ y en el grupo de pacientes con cáncer en estadio IV fue de 1.65 ± 0.41 pg/dL, $p=0.014^*$. El análisis estadístico se realizó con ANOVA con una significancia de 0.05, pruebas post hoc Dunnett bilateral, (Figura 3)

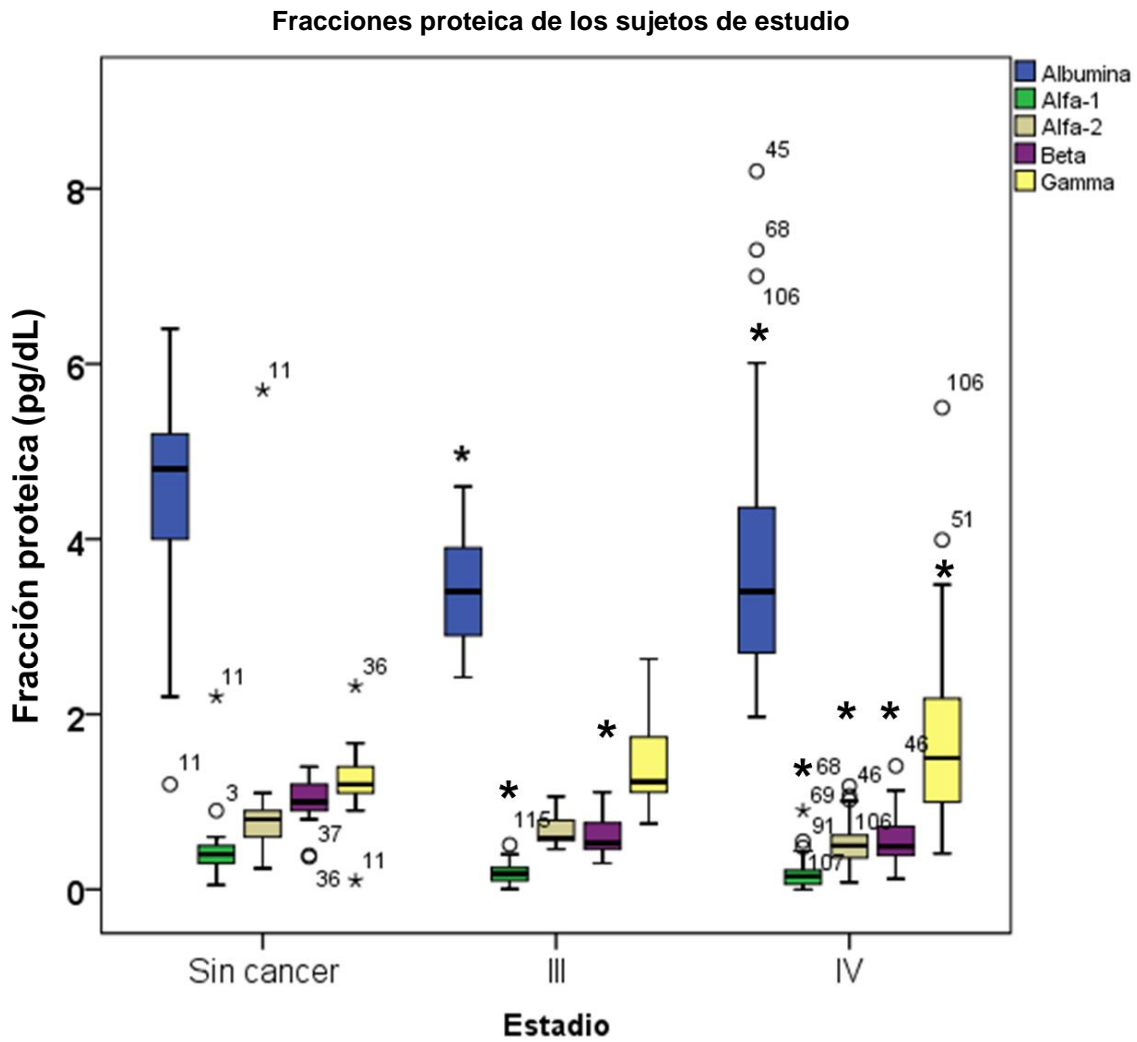


Figura 3. Fracciones proteica obtenidos por electroforesis de pacientes con cáncer gástrico en el estadio III y IV. Se obtuvo diferencias significativas entre el grupos y fracciones proteicas. Se realizó ANOVA con prueba post hoc de Dunnet (bilateral).

El promedio de la concentración de IgM en el grupo control fue de 144.66 ± 41.59 pg/dL, en el grupo de cáncer en el estadio III fue de 121.14 ± 31.34 pg/dL y en el grupo de cáncer en el estadio IV fue de 117.22 ± 44.79 pg/dL. El análisis estadístico mostró que existe una diferencia significativa entre el grupo control y el grupo de cáncer en el estadio IV $p=0.001$; (Figura.4).

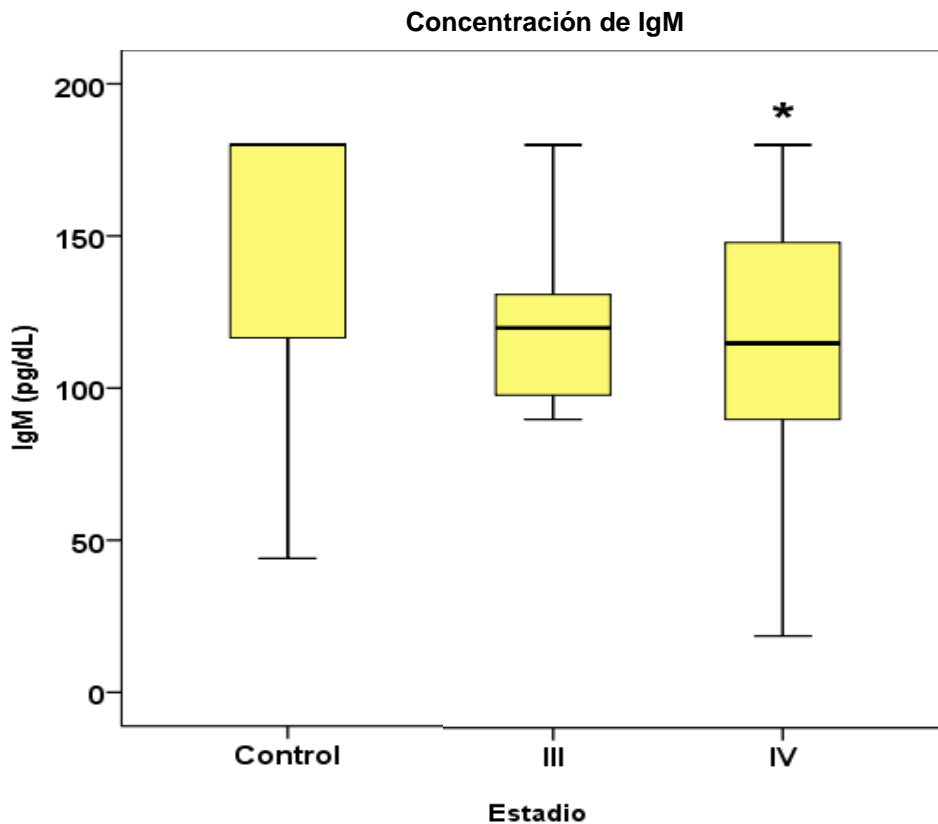


Figura 4. Concentración de IgM obtenida por ELISA en sujetos con cáncer difuso en el estadio III y IV, y grupo control. El análisis estadístico mostró que existe una diferencia significativa entre el grupo control y el grupo de cáncer en el estadio IV, $p=0.001$. Se realizó un ANOVA con una prueba post hoc de Dunnett (bilateral).

La concentración promedio de IgG en el grupo control fue de 2087.60 ± 443.21 pg/dL, en el grupo de cáncer en III fue de 1890 ± 669.90 pg/dL y en el grupo de cáncer en

el estadio IV fue de 2111.57 ± 531.98 pg/dL. El análisis estadístico mostró que no existe una diferencia significativa entre grupos (Figura 5).

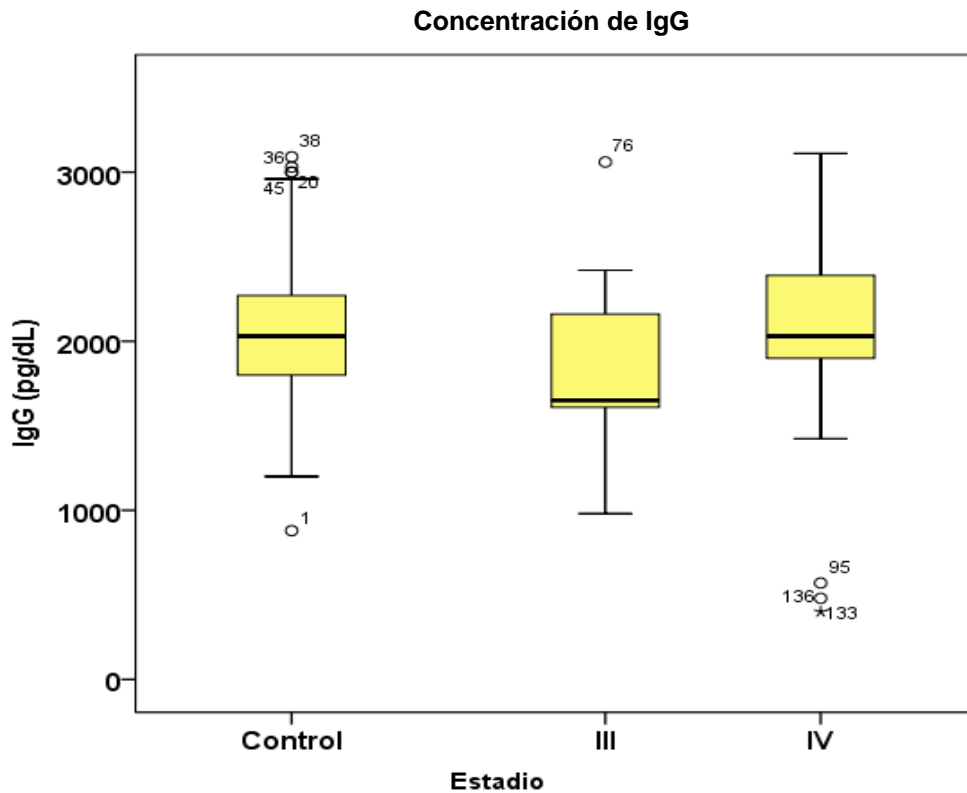


Figura 5. Concentración de IgG obtenida por la técnica de ELISA en sujetos con cáncer difuso en el estado III y IV, y grupo control. El análisis estadístico mostró que no existe una diferencia significativa entre grupos

La concentración de IgA del grupo control fue de 356.83 ± 25.67 pg/dL, en el grupo de cáncer en el estadio II fue de 362.00 ± 33.69 pg/dL, en el grupo de cáncer en el estadio III fue de 328.42 ± 23.19 pg/dL y en el grupo de cáncer en el estadio IV fue de 352.90 ± 26.79 pg/dL. El análisis estadístico no mostró diferencia significativa entre grupos (Figura 6).

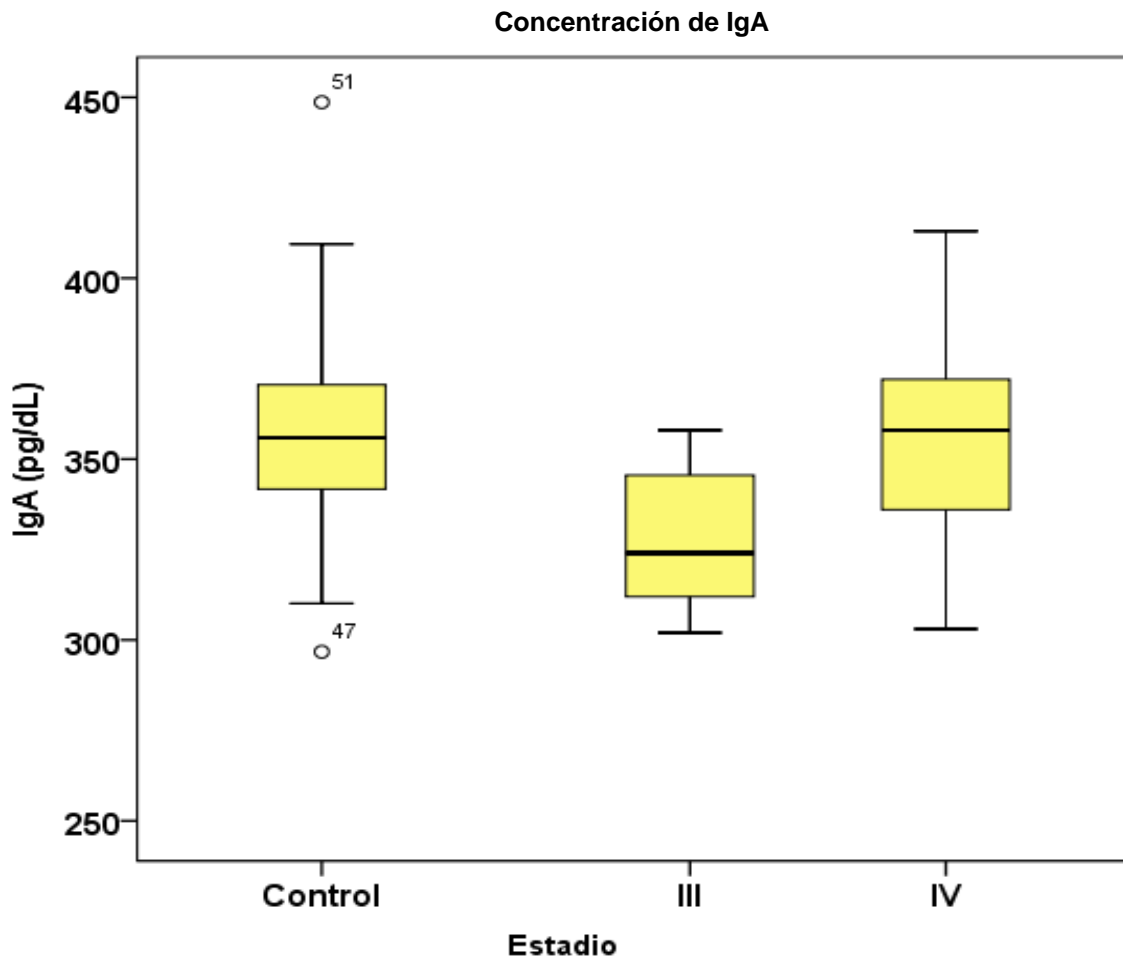


Figura 6. Concentración de IgA obtenida mediante la técnica de ELISA en sujetos con cáncer difuso en el estado III y IV, y grupo control. El análisis estadístico no mostró diferencia significativa entre grupos.

4.2 Discusión

En este estudio se analizó la concentración de proteína séricas y las inmunoglobulinas: IgA, IgM e IgG en pacientes con CG. De acuerdo con los resultados obtenidos la concentración de proteínas en los pacientes con CG en el estadio III y IV fueron menores. En cuanto a las inmunoglobulinas se encontró disminuida la concentración de IgM en los pacientes con CG en el estadio IV.

Se ha documentado que el cáncer gástrico de tipo difuso puede desarrollarse en personas jóvenes de 40-50 años (27). En este estudio se encontró que la edad promedio de pacientes con CG difuso fue de 54.32 ± 13.8 años.

Los pacientes que son diagnosticados con CG tienen una enfermedad incurable en los estadios más avanzados su detección se realiza mediante técnicas invasivas como la radiografía y endoscopia, por esta razón los biomarcadores séricos son la mayor promesa con respecto a la aceptabilidad del paciente. Los biomarcadores generalmente identifican la presencia de neoplasias malignas por medio de componentes tumorales circulantes, proteínas elaboradas por el mismo tumor o por respuestas del huésped al tumor (por ejemplo, inmunológica) (28). La regulación de las proteínas séricas puede indicar curación a pesar de la evidencia radiográfica de enfermedad persistente. En esta circunstancia, el tumor residual es frecuentemente inviable (29). Por tal motivo en este estudio se eligió realizar las pruebas de las proteínas séricas que están estrechamente relacionadas con el estado inmunológico de los pacientes que ya han sido diagnosticados con el CG.

Se ha documentado una estrecha relación entre todos los tipos de cáncer y el sistema inmune, por lo que actualmente las terapias más innovadoras van encaminadas a desarrollar inmunoterapias, ya que el sistema inmune tiene la capacidad de detectar y eliminar células tumorales (30). Los esfuerzos en el campo de la investigación han señalado la existencia de complejos inmunes circulantes como una nueva clase de marcadores tumorales con un potencial de diagnóstico como la IgM, que se han encontrado en varias enfermedades neoplásicas, como el cáncer colorrectal, el hígado y la próstata (31). No se ha documentado las concentraciones de IgM en pacientes con CG, sin embargo, en otros tipos de cáncer como el de hígado y colorectal la circulación de IgM es utilizada como el principal biomarcador porque forma complejos estables que muestran una mayor relevancia diagnóstica en comparación con otros indicadores séricos circulantes (32). En este estudio se encontró que la IgM está disminuida sin embargo no se descarta la posibilidad que pudiera estar implicada en el CG.

La IgG es la glicoproteína más abundante en plasma y suero, esta es representativa del sistema inmunológico, lo cual la convierten en una proteína ideal para examinar el papel de la glicosilación específica de la proteína en el cáncer. Los estudios de glicosilación de IgG en pacientes con cáncer, y por lo tanto el papel de la respuesta inmune humoral en esta enfermedad, son escasos. Recientemente, los estudios determinaron patrones de glicosilación de IgG alterados con cáncer gástrico (33). La estructura de la molécula de IgG se ve afectada significativamente en el CG por los glucanos que están unidos a ella, estos juegan un papel importante en la afinidad de la región Fc, por lo tanto, los anticuerpos no glicosilados tienen un impacto severo

en su afinidad de los receptores y tienen actividades mucho más bajas, lo que probablemente se deba a un cambio en la conformación de la molécula de IgG. También se ha demostrado que la eliminación de solo los residuos de galactosa de los glucanos IgG, como se observa en pacientes con cáncer gástrico, disminuye la actividad de los anticuerpos, aunque en mucho menor grado. Por lo tanto, esto indica que la respuesta inmune está probablemente alterada en pacientes con cáncer gástrico (31). En este estudio no encontramos diferencias significativas en las concentraciones séricas de IgG en los pacientes con CG, sin embargo, no descartamos la idea de que la IgG tenga relevancia en esta patología.

En un estudio realizado en pacientes con CG se determinó la asociación de esta patología con la respuesta inmune humoral, en la que cuantificaron IgA sérica. Los valores de IgA fueron sorprendentemente elevados en los casos de pacientes con cáncer en comparación con los sujetos control. El cáncer gástrico se caracteriza por la acumulación progresiva de una respuesta de IgA específicamente asociada con la presencia de uno de los principales agentes causales de la patología *Helicobacter pylori*, que comienza con un aumento anormal en todo el estómago, pero particularmente en el tejido no tumoral adyacente. Por lo tanto, es posible que esta fuerte respuesta inmune también participe en cierto grado en el daño y en el desarrollo del cáncer gástrico en cierta medida (34). En este estudio se encontró alteraciones considerables de la IgA, esto debido a que en este estudio no se tomó en cuenta como criterio exclusivo para los pacientes con CG la presencia de *Helicobacter pylori* como un parámetro de inclusión el cual hubiera cambiado significativamente este estudio.

4.3 Conclusión

Se evaluó la concentración de proteínas totales y sus fracciones y el nivel de inmunoglobulinas en 73 pacientes con cáncer gástrico difuso e intestinal estadios avanzados, por los resultados encontrados podemos concluir:

Con relación a la edad y tipo de cáncer, el cáncer gástrico difuso, se detectó en un mayor porcentaje de pacientes en edades demasiado joven.

La concentración de proteínas se encontró en concentraciones normales en un 60% en los pacientes con cáncer gástrico estadio III y IV.

Se encontró una disminución en las fracciones proteicas de albumina (cáncer gástrico intestinal), alfa-1 (cáncer gástrico difuso), beta (ambos tipos de cáncer). Sin embargo, la fracción gamma, en los pacientes con cáncer gástrico estadio IV aumento.

La concentración de IgM en el suero de los pacientes con CG se encontró normal.

Se encontraron concentraciones elevadas de IgG en un elevado porcentaje de los pacientes con ambos tipos de cáncer gástrico, estadio IV.

En el 50% de los pacientes con CG difuso estadio IV, presento una concentración elevada de IgA.

Bibliografía

1. Takeno S, Hashimoto T, Maki K, Shibata R, Shiwaku H, Yamana I, et al. Gastric cancer arising from the remnant stomach after distal gastrectomy: A review. *World J Gastroenterol*. 2014;20(38):13734–41.
2. YUAN D-D, ZHU Z-X, ZHANG X, LIU J. Targeted therapy for gastric cancer: Current status and future directions (Review). *Oncol Rep* [Internet]. 2016;35(3):1245–54. Available from: <https://www.spandidos-publications.com/>
3. Karimi P, Islami F, Anandasabapathy S, Freedman ND, Kamangar F. Gastric Cancer: Descriptive Epidemiology, Risk Factors, Screening, and Prevention. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* [Internet]. 2014;23(5):700–13. Available from: <http://cebp.aacrjournals.org/cgi/doi/10.1158/1055-9965.EPI-13-1057>
4. Yang L, Levi E, Zhu S, Du J, Majumdar APN. Cancer stem cells biomarkers in gastric carcinogenesis. *J Gastrointest Cancer*. 2013;44(4):428–35.
5. Van Cutsem E, Sagaert X, Topal B, Haustermans K, Prenen H. Gastric cancer. *Lancet* [Internet]. 2016;388(10060):2654–64. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)30354-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(16)30354-3)
6. Massarrat S, Haj-Sheykholeslami A. Increased serum pepsinogen II level as a marker of pangastritis and corpus-predominant gastritis in gastric cancer prevention. *Arch Iran Med*. 2016;19(2):137–40.
7. Matsueda S, Graham DY. Immunotherapy in gastric cancer. *World J*

- Gastroenterol. 2014;20(7):1657–66.
8. Stolte M, Massarrat S. Development of Gastric Cancer and Its Prevention. Arch Iran Med. 2014;17(7):514–20.
 9. Kwon CH, Kim KY, Lee S, Kim A, Park HJ, Choi Y, et al. Gastric Poorly Cohesive Carcinoma: A correlative study of mutational signatures and prognostic significance based on histopathologic subtypes. ARPN J Eng Appl Sci. 2017;12(10):3218–21.
 10. Diaz-Vivancos P, De Simone A, Kiddle G, Foyer CH. Glutathione - Linking cell proliferation to oxidative stress. Free Radic Biol Med [Internet]. 2015;89:1154–64. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2015.09.023>
 11. Jørgensen JT. Targeted HER2 treatment in advanced gastric cancer. Oncology. 2010;78(1):26–33.
 12. Lee KE, Khoi PN, Xia Y, Park JS, Joo YE, Kim KK, et al. Helicobacter pylori and interleukin-8 in gastric cancer. World J Gastroenterol. 2013;19(45):8192–202.
 13. Amieva M, Peek RM. Pathobiology of Helicobacter pylori-Induced Gastric Cancer. Gastroenterology [Internet]. 2016;150(1):64–78. Available from: <http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2015.09.004>
 14. Wang F, Meng W, Wang B, Qiao L. Helicobacter pylori-induced gastric inflammation and gastric cancer. Cancer Lett [Internet]. 2014;345(2):196–202. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.canlet.2013.08.016>

15. Yakut M, Örmeci N, Erdal H, Keskin O, Karayel Z, Tutkak H, et al. The association between precancerous gastric lesions and serum pepsinogens, serum gastrin, vascular endothelial growth factor, serum interleukin-1 Beta, serum toll-like receptor-4 levels and Helicobacter pylori Cag A status. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* [Internet]. 2013;37(3):302–11. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.clinre.2012.09.013>
16. Agréus L, Kuipers EJ, Kupcinskas L, Malfertheiner P, Di Mario F, Leja M, et al. Rationale in diagnosis and screening of atrophic gastritis with stomach-specific plasma biomarkers. *Scand J Gastroenterol*. 2012;47(2):136–47.
17. Nakajima K, Tamai M, Okaniwa S, Nakamura Y, Kobayashi M, Niwa T, et al. Humoral hypercalcemia associated with gastric carcinoma secreting parathyroid hormone: a case report and review of the literature. *Endocr J* [Internet]. 2013;60(5):557–62. Available from: <http://jlc.jst.go.jp/DN/JST.JSTAGE/endocrj/EJ12-0406?lang=en&from=CrossRef&type=abstract>
18. Oliveira C, Pinheiro H, Figueiredo J, Seruca R, Carneiro F. Familial gastric cancer: Genetic susceptibility, pathology, and implications for management. *Lancet Oncol* [Internet]. 2015;16(2):e60–70. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S1470-2045\(14\)71016-2](http://dx.doi.org/10.1016/S1470-2045(14)71016-2)
19. Kelly RJ. Immunotherapy for Esophageal and Gastric Cancer. *Am Soc Clin Oncol Educ B* [Internet]. 2017;37:292–300. Available from: <http://meetinglibrary.asco.org/content/175231-199>

20. Lee K, Hwang H, Nam KT. Immune Response and the Tumor Microenvironment: How They Communicate to Regulate Gastric Cancer. *Gut Liver*. 2014;8(2):131–9.
21. Scrimini S, Pons J, Sauleda J. Células mieloides supresoras: potencial vínculo entre la enfermedad pulmonar obstructiva crónica y el cáncer de pulmón. *Arch Bronconeumol* [Internet]. 2016;52(1):29–35. Available from: <http://www.archbronconeumol.org/es/celulas-mieloides-supresoras-potencial-vinculo/articulo/S0300289615003087/>
22. Gastrectomy P. Pathology and Prognosis. *Cancer*. 1992;70:1030–7.
23. Wadhwa R, Taketa T, Sudo K, Blum MA, Ajani JA. Modern Oncological Approaches to Gastric Adenocarcinoma. *Gastroenterol Clin North Am*. 2013;42(2):359–69.
24. Rosenberg SA, Lotze MT, Muul LM, Leitman S, Chang AE, Ettinghausen SE, et al. Observations on the Systemic Administration of Autologous Lymphokine-Activated Killer Cells and Recombinant Interleukin-2 to Patients with Metastatic Cancer. *N Engl J Med* [Internet]. 1985;313(23):1485–92. Available from: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJM198512053132327>
25. Sawant A, Schafer CC, Jin TH, Zmijewski J, Tse HM, Roth J, et al. NIH Public Access. 2014;73(22):1–25.
26. Kono K, Takahashi A, Ichihara F, Amemiya H, Iizuka H, Fujii H, et al. Prognostic Significance of Adoptive Immunotherapy with Tumor-associated Lymphocytes in Patients with Advanced Gastric Cancer. *Clin Cancer Res*.

- 2002;8(6):1767–71.
27. Cetin B, Gumusay O, Cengiz M, Ozet A. Advances of Molecular Targeted Therapy in Gastric Cancer. 2016;
 28. Fleming JS, Beaugié CR, Haviv I, Chenevix-Trench G, Tan OL. Incessant ovulation, inflammation and epithelial ovarian carcinogenesis: Revisiting old hypotheses. *Mol Cell Endocrinol*. 2006;247(1–2):4–21.
 29. Perkins GL, Slater ED, Sanders GK, Prichard JG. Serum tumor markers [Internet]. Vol. 68, *American Family Physician*. 2003 [cited 2018 Dec 2]. p. 1075–82. Available from: www.aafp.org/afp
 30. Perla D, Jacobo M, Guadalupe J, López H, Patricia D, Quintana C. Interacciones entre el cáncer y el sistema inmunológico. 2017;26:56–63.
 31. Goč S, Janković M. Evaluation of molecular species of prostate-specific antigen complexed with immunoglobulin m in prostate cancer and benign prostatic hyperplasia. *Dis Markers*. 2013;35(6):847–55.
 32. Beneduce L, Prayer-Galetti T, Giustinian AMG, Gallotta A, Betto G, Pagano F, et al. Detection of prostate-specific antigen coupled to immunoglobulin M in prostate cancer patients. *Cancer Detect Prev* [Internet]. 2007 Jan [cited 2018 Dec 2];31(5):402–7. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0361090X07001286>
 33. Kodar K, Stadlmann J, Klaamas K, Sergeyev B, Kurtenkov O. Immunoglobulin G Fc N-glycan profiling in patients with gastric cancer by LC-ESI-MS: Relation to tumor progression and survival. *Glycoconj J*. 2012;29(1):57–66.

34. Yolanda L, Sergio P, Hugo E, Isabel AR, Rafael B, Aldo T, et al. Gastric cancer progression associated with local humoral immune responses. *BMC Cancer* [Internet]. 2015;1–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s12885-015-1858-9>

Anexos

Tabla de abreviaturas

| | |
|--|-------------------------------|
| Albúmina de suero de bovino | BSA |
| Análisis de varianza | ANOVA |
| Cancer gastrico | CG |
| Células presentadoras de antígenos | CPA |
| Células supresoras derivadas mieloides | MDSC |
| Complejo principal de histocompatibilidad | MHC |
| Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas | ELISA |
| Factor de crecimiento transformante β | TGF-β |
| Inmunoglobulina A | IgA |
| Inmunoglobulina G | IgG |
| Inmunoglobulina M | IgM |
| Interleucina 2 | IL-2 |
| Linfocitos T reguladores | Treg |
| Linfoma de tejido linfoide asociado a mucosa | MALT |
| Natural Killer | NK |
| Picogramos por decilitro | pg/Dl |