



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

INSTITUTO NACIONAL DE CANCEROLOGÍA

CURSO DE ESPECIALIDAD EN ONCOLOGÍA MÉDICA

**PREVALENCIA DE ANTICUERPOS ANTI-CÉLULAS
PARIETALES GÁSTRICAS Y SU ASOCIACIÓN CON LA
SEROLOGÍA ANTI *HELICOBACTER PYLORI/CAGA+* EN
PACIENTES CON ADENOCARCINOMA GÁSTRICO EN EL
INSTITUTO NACIONAL DE CANCEROLOGÍA DE MÉXICO**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

SUBESPECIALISTA EN ONCOLOGÍA MÉDICA

PRESENTA:

DR. GALILEO ARTURO GONZÁLEZ CONCHAS

DRA. ERIKA BETZABÉ RUIZ GARCÍA

DIRECTORA DE TESIS

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX.

2023





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Dedicatoria

A mis padres,

A mis generosos maestros,

Al Instituto que me forjó,

A mis pacientes,

Gracias.

ÍNDICE

Tabla de contenido

PORTADA.....	1
I. RESUMEN	4
II. INTRODUCCIÓN.....	5
III. JUSTIFICACIÓN	12
IV. PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN.....	13
V. OBJETIVOS.....	14
VI. PACIENTES Y MÉTODOS	15
VII. RESULTADOS	19
VIII. DISCUSIÓN	30
IX. CONCLUSIÓN.....	32
X. REFERENCIAS.....	33

I. RESUMEN

Título: Prevalencia de anticuerpos anti-células parietales gástricas y su asociación con la serología anti *Helicobacter pylori*/cagA+ en pacientes con adenocarcinoma gástrico en el Instituto Nacional de Cancerología de México.

Antecedentes: El cáncer gástrico es la quinta neoplasia maligna más frecuente. Su incidencia global disminuyó en el siglo XX debido a una menor prevalencia de infección por *Helicobacter pylori*. En países industrializados, su incidencia ha incrementado en las últimas tres décadas, particularmente en menores de 50 años. Las enfermedades autoinmunes han aumentado en prevalencia en estos países por lo que la gastritis autoinmune es un posible factor de riesgo emergente para cáncer gástrico.

Métodos: Se realizó un estudio observacional y retrospectivo. El objetivo fue determinar la prevalencia de anticuerpos anti-células parietales gástricas y su asociación con los anticuerpos anti-*Helicobacter pylori* total/cagA+ en el suero de pacientes con adenocarcinoma gástrico atendidos en el Instituto Nacional de Cancerología de México de noviembre de 2019 a abril de 2022. Las determinaciones se realizaron mediante enzimoimmunoanálisis de adsorción y se obtuvo la información clinicopatológica del expediente electrónico.

Resultados: Se incluyeron 95 pacientes (edad media: 58.3 años). La positividad para anticuerpos antiparietales fue del 13.6%, anti-*Helicobacter pylori* total del 36.8% y cagA+ del 2.1%. Los pacientes con serología antiparietal positiva presentaron títulos menores de anticuerpos anti-*Helicobacter pylori* total ($p=0.038$ por U de Mann-Whitney).

Discusión: Existe plausibilidad biológica para tener un mayor riesgo de desarrollar adenocarcinoma gástrico asociado a la presencia de anticuerpos antiparietales en ausencia de infección por *Helicobacter pylori*. Nuestros hallazgos apoyan la hipótesis de la gastritis autoinmune como factor de riesgo emergente para cáncer gástrico. Se requieren estudios adicionales para estimar el riesgo atribuible.

II. INTRODUCCIÓN

El cáncer gástrico es a nivel mundial el quinto tumor maligno más frecuente y el cuarto más letal causando el 7.7% del total de muertes por cáncer. En México, ocupa el sexto lugar en frecuencia con 8,800 nuevos casos y el quinto en mortalidad con 6,600 defunciones por año [1]. El 90% de los cánceres gástricos son adenocarcinomas originados en el epitelio glandular y pueden dividirse según la clasificación histológica de Lauren en los tipos intestinal y difuso. El tipo intestinal es el más frecuente y se denomina así por su similitud con otros adenocarcinomas originados en el tracto digestivo, mientras que el tipo difuso o discohesivo se caracteriza por una pérdida de adhesión intercelular y ausencia de estructuras glandulares [2].

Los principales factores de riesgo para desarrollar adenocarcinoma gástrico son la infección por *Helicobacter pylori* (HP), los antecedentes heredofamiliares, el consumo de alimentos altos en sal o nitritos, el tabaquismo y la gastritis autoinmune (GAI). Desde la segunda mitad del siglo XX la incidencia global de cáncer gástrico ha disminuido como resultado de una menor prevalencia de infección por HP [3, 4]. Sin embargo, en países industrializados se ha registrado un incremento en su incidencia en las últimas tres décadas, particularmente en jóvenes que se presentan con tumores originados fuera del cardias, un sitio primario asociado a la gastritis crónica [5, 6]. Un análisis epidemiológico en Estados Unidos de 1998 a 2013 demostró un incremento del 1.3% anual en la tasa de incidencia de cáncer gástrico en la población blanca no hispana menor de 50 años. Las mujeres dentro de este grupo demográfico presentaron un mayor incremento, siendo del 2.6% anual. En hispanos, el incremento fue del 4.2% anual en mujeres y del 1.6% en hombres. De mantenerse esta tendencia, el cáncer gástrico será más frecuente en mujeres para el año 2030 en Estados Unidos [7]. En el Instituto Nacional de Cancerología de México se reportó en el periodo de 2004 a 2016 un incremento del 120% en el número de pacientes menores de 50 años atendidos por cáncer gástrico, 54% de los cuales fueron mujeres [8]. Esto indica que la epidemiología del cáncer gástrico está cambiando en México de manera similar a lo observado en países industrializados. La mayor proporción de mujeres jóvenes afectadas con tumores originados fuera del cardias y la distribución geográfica en países con una menor prevalencia de infección por HP y con

mayor incidencia de enfermedades autoinmunes, sugieren un papel de la GAI como factor de riesgo emergente en esta población [7].

Gastritis crónica y el riesgo de cáncer gástrico

Se denomina gastritis a la inflamación de la mucosa gástrica por múltiples etiologías y puede ser aguda o crónica. La infección por HP y la GAI son causas de gastritis crónica. En el caso de infección por HP, se ha descrito una secuencia de carcinogénesis, denominada como cascada de Correa, que inicia con gastritis crónica y es seguida por gastritis atrófica, metaplasia intestinal, displasia y finalmente adenocarcinoma de tipo intestinal (**Figura 1**). Es posible que esta secuencia se presente también en la GAI [9]. La gastritis atrófica se define como la desaparición patológica de las glándulas gástricas nativas pudiendo ser reemplazadas por tejido fibroso o por un epitelio que no corresponde en esa ubicación en un fenómeno conocido como metaplasia [10]. En un estudio de seguimiento a 20 años, se estimó la incidencia de cáncer gástrico en 1 de 39 pacientes con metaplasia intestinal y en 1 de 19 en aquellos con displasia intestinal [11]. Contrario al tipo intestinal, los adenocarcinomas de tipo difuso no tienen una lesión precancerosa definida.

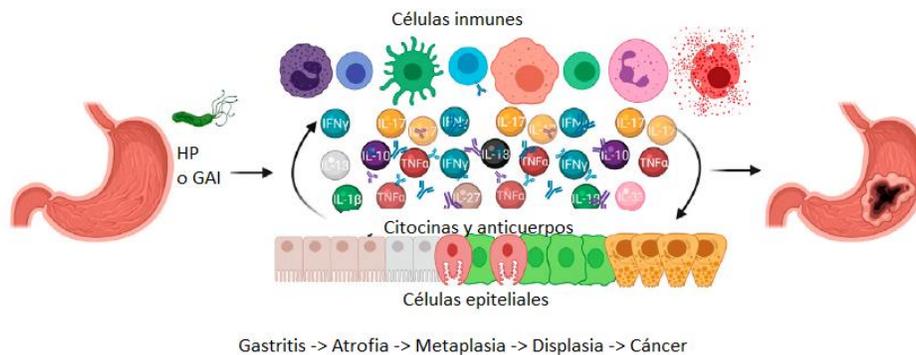


Figura 1. *Cascada de Correa:* La infección por HP y la GAI son causas inflamación crónica que puede progresar a metaplasia gástrica e incrementar el riesgo de adenocarcinoma gástrico. Tomada de [12].

***Helicobacter pylori* y su factor de virulencia *cagA* en el cáncer gástrico**

Cerca de la mitad de la población mundial está infectada por HP [13]. Su prevalencia varía de acuerdo con la región geográfica y está relacionada a condiciones de desarrollo humano e higiene, siendo de 18.9% en Suiza y llegando hasta el 87.7% en Nigeria [14]. Sin embargo, la prevalencia de infección por HP no se refleja directamente en la incidencia de cáncer gástrico, ya que la mayoría de las personas infectadas no desarrollarán síntomas ni lesiones premalignas por una compleja interacción en los factores del huésped, ambientales y factores de virulencia bacterianos. El factor de virulencia de HP asociado a un mayor riesgo de malignidad es la expresión del gen A asociado a la citotoxina (CagA) [15-17]. Por su relevancia, las cepas de HP pueden dividirse en aquellas que producen la proteína *cagA* (*cagA+*) y las que no la producen (*cagA-*). Cerca del 66% de los aislamientos de HP en México y del 60% en países occidentales son cepas *cagA+* [16, 18-20]. La proteína *cagA* es codificada por el gen homónimo que se encuentra junto con otros 30 genes en un segmento de ADN de unos 40 kb denominado isla de patogenicidad *cag* [21]. La proteína *cagA* es internalizada en las células epiteliales gástricas mediante un sistema de secreción tipo 4 y se comporta como una oncoproteína que desregula múltiples vías de señalización (**Figura 2**) y produce una prominente respuesta proliferativa e inflamatoria [16, 22, 23]. Su potencial oncogénico se demostró en ratones transgénicos en los que la expresión de *cagA* los predispuso a la aparición de neoplasias gástricas [24]. La inflamación crónica en la infección por HP es resultado de una extensa infiltración en la mucosa gástrica por linfocitos T CD4+ y CD8+ y linfocitos B productores de IgM e IgG. Las citocinas factor de necrosis tumoral alfa (TNF-A), interferón gamma (IFN-Y), interleucina (IL) 1 beta, IL-6, IL-8, IL-10 e IL-18 se encuentran sobre expresadas en las biopsias de personas con infección por HP [25]. La respuesta inmune generada por HP típicamente promueve la diferenciación de las células T CD4 en células T cooperadoras (TH) tipo 1 productoras de IFN-Y y TNF-A, contrario a las TH2 que producen IL-4 e IL-13 [26]. Esta expresión de IFN-Y promueve la inflamación y metaplasia gástrica [27].

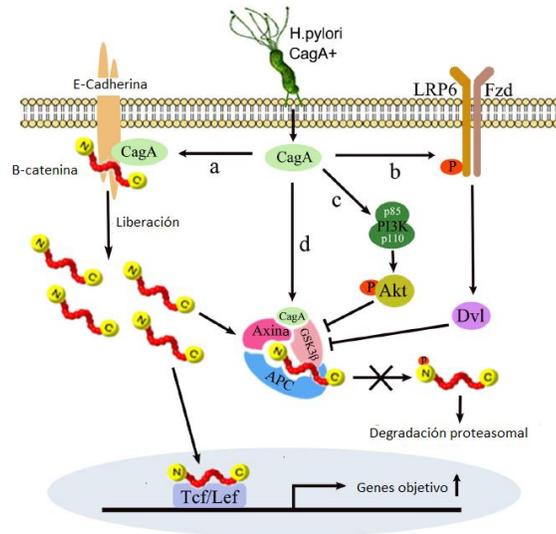


Figura 2. CagA provoca desregulación de la vía de B-catenina. **a)** CagA se combina competitivamente con E-cadherina e impide la formación del complejo E-cadherina/B-catenina, causando acumulación citoplásmica y nuclear de B-catenina. **b)** *H. pylori* induce fosforilación y activación de LRP6. **c)** cagA induce la inactivación de GSK-3B mediante la vía de señalización PI3K/Akt. **d)** cagA se une a GSK-3B y depleta su actividad, inhibiendo la fosforilación y degradación proteasomal de la B-catenina citosólica. Tomada de [15].

Gastritis autoinmune, anticuerpos antiparietales y su asociación con adenocarcinoma gástrico

La GAI es una enfermedad inflamatoria crónica, progresiva y órgano específica que se caracteriza por la presencia de anticuerpos dirigidos contra la bomba de protones de las células parietales gástricas (anticuerpos antiparietales) que producen su destrucción y sustitución por mucosa atrófica y metaplasia intestinal. Adicionalmente existen anticuerpos contra el factor intrínseco que causan malabsorción de vitamina B12. La GAI suele ser asintomática en etapas tempranas mientras que en estadios avanzados el déficit vitamínico produce anemia megaloblástica y síntomas neuropsiquiátricos en un cuadro denominado anemia perniciosa [28]. Se estima que la prevalencia de GAI en Estados Unidos es del 2% en población general y es más frecuente en mujeres con una relación 3 a 1. Al igual que otras enfermedades autoinmunes, su incidencia ha incrementado en las últimas décadas [29, 30]. En la GAI, los linfocitos T CD4 autorreactivos se diferencian predominantemente hacia el fenotipo TH-1 secretor de IFN- γ y son capaces de inducir *in vitro* la secreción de anticuerpos IgM, IgG e IgA en células

B autólogas [31]. En ratones transgénicos dotados de linfocitos CD4 específicos contra un péptido de la cadena alfa de la ATPasa H⁺/K⁺ gástrica, el principal autoantígeno en la GAI, se logró inducir la secuencia de gastritis, metaplasia y displasia. Se produjo además una respuesta inmune adaptativa similar a la descrita en humanos, con generación de anticuerpos antiparietales y citocinas proinflamatorias como IFN- γ e IL-17, las cuales inducen atrofia de células parietales [32]. Se ha descrito un mayor riesgo de desarrollo de cáncer gástrico asociado a la presencia de anticuerpos antiparietales en el suero de personas sanas, aún en ausencia de infección por HP o hallazgos endoscópicos de GAI [33]. En pacientes con cáncer gástrico, la positividad para anticuerpos antiparietales se ha reportado entre el 7.2% al 17.6% [33].

Similitudes y diferencias entre infección por HP y gastritis autoinmune

La infección por HP y la GAI son causas de gastritis atrófica no mutuamente excluyentes y pueden coexistir en personas con adenocarcinoma gástrico. Por sus características y manifestaciones compartidas, en algunos casos de atrofia avanzada es difícil determinar con exactitud su etiología. Algunos criterios clínicos y patológicos pueden utilizarse en conjunto para diferenciarlas. La infección por HP afecta inicialmente al antro gástrico y posteriormente se disemina en parches al resto de la mucosa gástrica lo que produce el patrón endoscópico de gastritis atrófica multifocal, mientras que en la GAI la atrofia se limita al cuerpo gástrico debido a la distribución habitual de las células parietales [34]. En ausencia de infección activa o previa por HP, la mucosa del antro se encuentra respetada. Inmunológicamente, en la infección por HP se producen anticuerpos IgG séricos contra diversos antígenos del HP, incluido cagA, mientras que en la GAI predominan los autoanticuerpos antiparietales y anti-factor intrínseco, presentes en el 90% y 60% de los casos, respectivamente [35]. La prevalencia y el título de autoanticuerpos disminuye en las fases avanzadas de la GAI como resultado de una pérdida del estímulo antigénico [36]. De manera similar, la hipoclorhidria crea un ambiente adverso para la supervivencia de HP y la seropositividad contra antígenos de HP disminuye en fases avanzadas [37]. Histológicamente, en la infección por HP predomina un infiltrado neutrofilico, mientras que en la GAI existe una atrofia glandular difusa limitada al cuerpo gástrico que presenta un grado variable de metaplasia intestinal

e hiperplasia de células tipo endocrinas [38, 39]. Las principales diferencias entre la gastritis inducida por HP y por GAI se resumen en la **Tabla 1**.

	Gastritis inducida por <i>H. pylori</i>	Gastritis autoinmune
Manifestaciones clínicas	Enfermedad ulcerosa péptica Anemia ferropénica	Anemia perniciosa Anemia ferropénica Asociación con síndromes autoinmunes poliglandulares
Patrón de afección endoscópica	Inicia en el antro y se extiende en parches al cuerpo gástrico provocando enfermedad multifocal	Se limita al cuerpo gástrico
Serología	IgG anti-HP y cagA	Anticuerpos antiparietales y anti-factor intrínseco Ocasionalmente IgG anti-HP Gastrina elevada
Diana de linfocitos	Antígenos de HP (cagA, FlaA, VacA, UreB)	Células parietales Factor intrínseco
Infiltrados inflamatorios	Adaptativa: TH1 y TH17, células B Innata: Neutrófilos, macrófagos, células dendríticas, mastocitos, eosinófilos Células epiteliales que se convierten en presentadoras de antígeno	Adaptativa: TH1 y TH17, células B Innata: Macrófagos, células dendríticas, mastocitos, eosinófilos Células epiteliales que se convierten en presentadoras de antígeno
Tratamiento	Terapia de erradicación	Suplementación de vitamina B12

Tabla 1. Comparación entre las características de la gastritis inducida por HP y autoinmune. Adaptada de [12].

Posible asociación entre la infección por HP y el desarrollo de anticuerpos antiparietales

Se ha hipotetizado que la infección por HP puede inducir una respuesta inmunitaria que termina en un cuadro clínico de GAI en personas susceptibles [40-42]. La detección de anticuerpos antiparietales hasta en el 30% de las personas infectadas por HP, que tienen como objetivo las subunidades α y β de la ATPasa gástrica, aunado al mimetismo molecular entre la subunidad B de la ureasa de HP y la subunidad B de la ATPasa gástrica refuerzan dicha hipótesis [43-46]. La infección por HP produce un incremento en la capacidad presentadora de antígenos de las células epiteliales gástricas mediante un incremento en la expresión del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC), lo que podría incrementar la posibilidad de autoinmunidad independiente del mimetismo molecular [47]. Además, se ha descrito la reversión de los cambios histológicos presentes en fases tempranas de GAI tras la erradicación de HP [14, 48]. Sin embargo, la información respecto a la asociación entre HP y GAI es heterogénea y es posible que el antecedente de infección por HP sea infraestimado en los casos de GAI por la menor prevalencia de anticuerpos contra HP en estadios más avanzados [28, 49, 50].

III. JUSTIFICACIÓN

El adenocarcinoma gástrico es un problema de salud pública con una elevada morbimortalidad. Es una necesidad describir factores de riesgo que expliquen el incremento en incidencia observado en las últimas décadas, predominantemente en personas menores de 50 años. Las enfermedades autoinmunes han presentado un incremento en incidencia en países industrializados y existe plausibilidad biológica para considerar la presencia de anticuerpos antiparietales en suero como un factor de riesgo para desarrollar adenocarcinoma gástrico. Es posible que los mecanismos de carcinogénesis desencadenados por la infección por HP y por los anticuerpos antiparietales coexistan e interactúen. La determinación en suero de anticuerpos antiparietales y anti-HP/cagA al momento del diagnóstico de adenocarcinoma gástrico permite obtener información sobre el estatus de exposición a estos factores de riesgo de manera simultánea y sin procedimientos invasivos adicionales. Se desconoce la prevalencia en conjunto de estos anticuerpos en el suero de pacientes diagnosticados con adenocarcinoma gástrico en México. Al ser un centro de referencia nacional, el Instituto Nacional de Cancerología de México recibe una gran cantidad de casos de cáncer gástrico de distintas regiones del país y cuenta con un equipo multidisciplinario experimentado para su diagnóstico y tratamiento.

IV. PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es la prevalencia de anticuerpos antiparietales y anti *Helicobacter pylori*/CagA+ en el suero de pacientes diagnosticados con adenocarcinoma gástrico en el Instituto Nacional de Cancerología de México?

¿Existe asociación entre el estatus de seropositividad contra *Helicobacter pylori*/cagA+ y el título de anticuerpos antiparietales en pacientes con adenocarcinoma gástrico?

¿Existe asociación entre el tipo histológico de Lauren con la presencia de anticuerpos antiparietales y anti *Helicobacter pylori*/cagA+?

¿Es diferente la prevalencia de anticuerpos antiparietales séricos en pacientes con adenocarcinoma gástrico menores de 50 años, comparado con aquellos mayores de 50 años?

V. OBJETIVOS

El objetivo **primario** de este estudio es determinar la prevalencia de anticuerpos antiparietales y anti *Helicobacter pylori/cagA+* en el suero de pacientes con diagnóstico de adenocarcinoma gástrico atendidos en el Instituto Nacional de Cancerología de México.

Los **objetivos secundarios** son

- *Determinar si existe asociación entre:*
 - El estatus serológico contra *Helicobacter pylori/cagA+* y el título de anticuerpos antiparietales en suero.
 - La edad y el título de anticuerpos antiparietales.
 - El tipo histológico de Lauren de adenocarcinoma gástrico con el título de anticuerpos antiparietales y anti-HP.
 - El grado de diferenciación histológico con el título de anticuerpos antiparietales.
 - El grado de diferenciación histológico con el estatus de serología anti *Helicobacter pylori/cagA+*.

VI. PACIENTES Y MÉTODOS

El estudio fue observacional, analítico y ambilectivo, con un muestreo no probabilístico que incluyó los registros institucionales de los pacientes con diagnóstico de adenocarcinoma gástrico atendidos en el Instituto Nacional de Cancerología de México en el periodo de noviembre de 2019 a abril de 2022 obtenidos de una base de datos electrónica utilizada para incluir pacientes al protocolo LEGACY-1 (registro clinicaltrials.gov: NCT03957031). El acceso a estos registros fue autorizado por la investigadora principal de ese protocolo de investigación en el Instituto con estricto respeto a la confidencialidad de la información.

Una vez identificados los pacientes se realizó una revisión de sus expedientes electrónicos para la extracción de información clínica y patológica. Para la determinación del estatus serológico de anticuerpos contra *Helicobacter pylori* total/cagA+ y antiparietales, se utilizó una muestra de sangre venosa periférica que había sido tomada al momento de la inclusión en el protocolo LEGACY-1 y que se mantuvo almacenada en congelación. El presente estudio fue aprobado por el Comité de Investigación y por el Comité de Ética en Investigación del Instituto Nacional de Cancerología (019/028/OMI) (CEI/1412/19) y todos los participantes proporcionaron su consentimiento informado por escrito.

Criterios de inclusión

Pacientes con diagnóstico de adenocarcinoma gástrico (incluyendo la unión gastroesofágica) confirmado por histopatología.

Edad mayor o igual a 18 años.

Firmar consentimiento informado por escrito.

Criterios de exclusión

Información del expediente electrónico no disponible para su revisión.

Muestra de sangre venosa periférica insuficiente o no disponible para su análisis.

Confirmación del diagnóstico

Todos los pacientes se realizaron una endoscopia superior y el diagnóstico de adenocarcinoma gástrico se confirmó mediante análisis histopatológico de la biopsia por el servicio de patología del Instituto Nacional de Cancerología de México.

Información clínica

Se recopiló de manera retrolectiva en una hoja de datos electrónica prediseñada la información del expediente electrónico sobre edad, sexo, antecedentes personales, heredofamiliares, características clínicas y patológicas del tumor, datos antropométricos, tabaquismo, alcoholismo, hábitos dietéticos, comorbilidades y variables sociodemográficas.

Análisis serológico

Una muestra de sangre venosa periférica se obtuvo de los participantes con un ayuno mínimo de 6 horas. Las muestras se tomaron en tubos sin anticoagulante y se mezclaron e incubaron por 30 minutos a temperatura ambiente. Se centrifugaron durante 15 minutos a 3500 rpm, se separó el suero en alícuotas de 500 μ L y se congeló a -70° C hasta su uso. Con esto, se realizó una medición de anticuerpos antiparietales y contra *Helicobacter pylori* total y antígeno cagA.

Determinación de anticuerpos contra células parietales gástricas

Se determinó de manera cuantitativa la presencia de anticuerpos antiparietales mediante un kit comercial ELISA (Parietalcell-Ab, IBL international, Alemania). Las muestras se diluyeron 1:101 en el "*sample buffer*" que incluía el kit. Cada muestra se incubó durante 30 minutos en una placa lista con antígeno de ATPasa H+/K+, incluyendo una curva de 0 a 300 U/ml como referencia para la determinación cuantitativa. Los pozos se lavaron para retirar el exceso de muestra y se incubaron por 30 minutos con un anticuerpo secundario anti-humano conjugado con peroxidasa de rábano (HRP). Se lavaron los pozos para retirar el exceso de anticuerpo y las muestras se revelaron por 30 minutos en oscuridad, utilizando como sustrato el TMB (3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine). Se añadió una solución para parar la reacción y la plaza se leyó a 450 y 620 nm. Con las

absorbancias obtenidas se calculó las U/ml de cada muestra. Se consideró un resultado mayor o igual a 18 U/ml como positivo según lo indicado por el fabricante.

Determinación de anticuerpos contra Helicobacter pylori total y cagA+

La determinación de anticuerpos contra *Helicobacter pylori* total y contra el antígeno cagA se realizó mediante ELISA. Para la determinación de anticuerpos contra el antígeno cagA se utilizó el método publicado por Camorlinga-Ponce [51]. Las muestras se diluyeron 1:1000 para la determinación de anticuerpos contra HP total y 1:50 para el antígeno cagA. Los pozos de las placas se recubrieron con antígenos de HP total o cagA diluidos en amortiguador de carbonato pH 9,6 a 4° C durante toda la noche y se lavaron los pozos para quitar el exceso de antígenos. Las placas se bloquearon durante 1 hora con leche descremada en polvo al 2.5 % diluida en un amortiguador de fosfatos (PBS) pH 7.4. Se retiró la solución bloqueadora y se añadieron los sueros incubándolos durante 1 hora a 37° C. Los pozos se lavaron y a continuación se incubaron con el anticuerpo secundario acoplado a fosfatasa alcalina diluido 1:1000 durante 1 hora a 37° C. El sustrato para revelar utilizado fue p-nitrofenilfosfato a 1 mg/ml. Las placas se leyeron a una absorbancia de 405 nm. Se consideraron positivas las muestras con una medición mayor o igual a 1.0 U/ml para HP extracto total y mayor o igual a 1.5 U/ml para el antígeno cagA.

Análisis estadístico

Se realizó análisis descriptivo de las variables. Para las variables categóricas se describieron proporciones y para las variables continuas se determinó la normalidad de la distribución mediante la prueba de Shapiro-Wilk, resumiendo los resultados en media con desviación estándar para las variables con distribución normal y mediana con rango intercuartilar para las variables con distribución no normal.

El análisis estadístico inferencial incluyó el cálculo de intervalos de confianza del 95%, pruebas de hipótesis para la comparación entre grupos y el cálculo de correlaciones. Para la comparación de medias entre grupos se utilizó la prueba T de Student para muestras independientes de distribución normal y Chi cuadrada o prueba exacta de Fisher para variables categóricas. Para la comparación de variables continuas de

distribución no normal se utilizó la prueba de U de Mann-Whitney. El nivel de significancia estadística se fijó en $p \leq 0.05$ a dos colas de distribución para todos los análisis. El análisis estadístico se realizó con el software Stata (Statacorp, EEUU) versión 14.0.

VII. RESULTADOS

Se incluyeron a 95 pacientes con diagnóstico de adenocarcinoma gástrico: 46 (57.5%) hombres y 34 (42.5%) mujeres. La edad media fue de 58.3 años, desviación estándar (DE): 13.3 años, con un rango de 33 a 85 años. La edad presentó una distribución normal mediante prueba Shapiro-Wilk ($p=0.11$). La gráfica de distribución de la edad se presenta en la **Figura 3**.

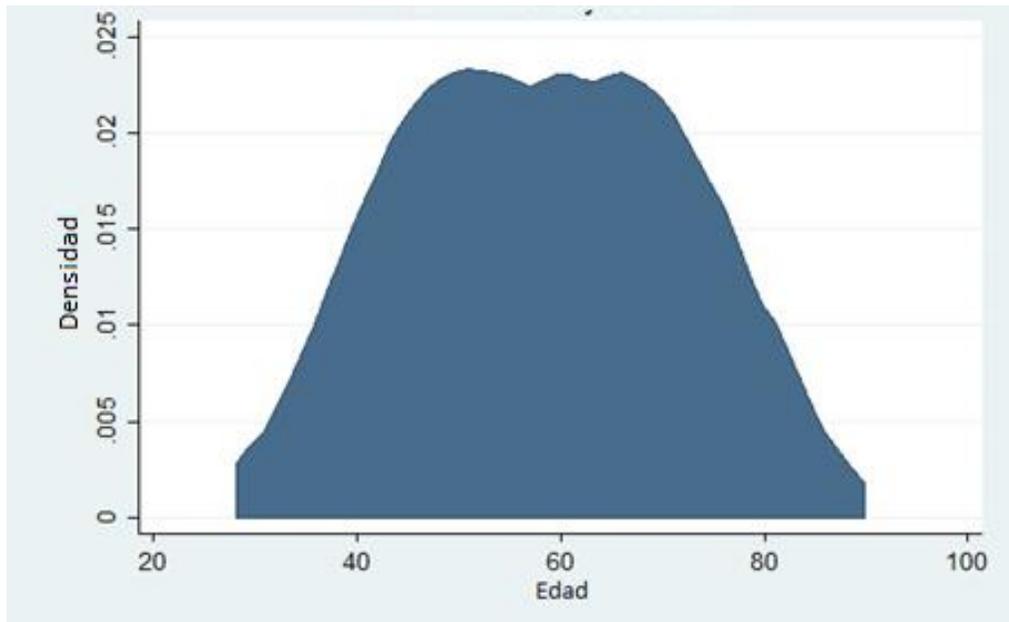


Figura 3. Distribución de la edad de los pacientes incluidos en el estudio.

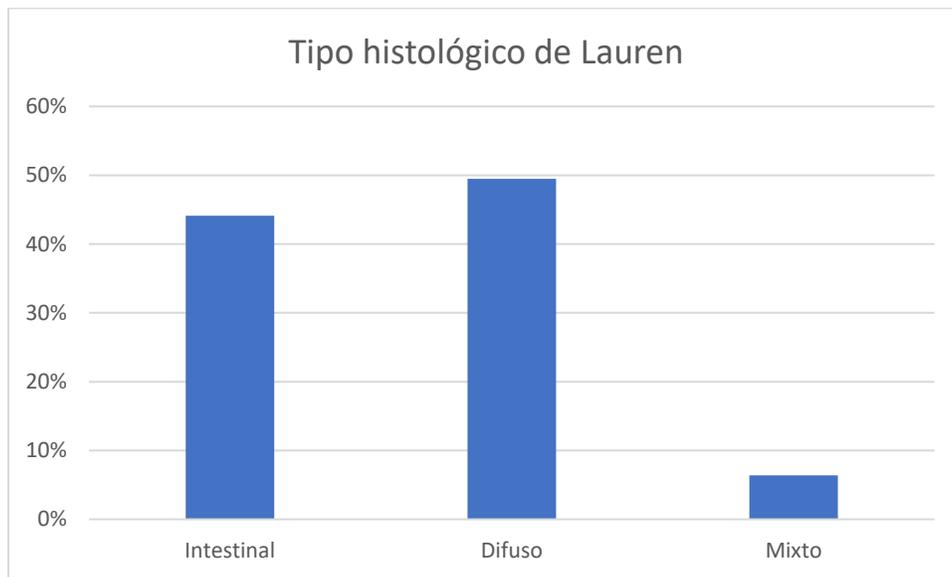
El sitio anatómico de origen se reportó en 94 pacientes (98.9% del total) y fue en fondo o cuerpo gástrico en 52.1%, antro o distal en 24.5%, cardias o proximal en 15.9% y en la unión gastroesofágica en 7.5%. Las características de los pacientes incluidos en el estudio se resumen en la **tabla 2**.

Variable	Valor, n (%)
Sexo	
Masculino	46 (57.5%)
Femenino	34 (42.5%)
Edad media, años (rango)	58.3 (33 – 85)
Tipo histológico de Lauren	
Intestinal	41 (43.2%)
Difuso	46 (48.4%)
Mixto	6 (6.3%)
No reportado	2 (2.1%)
Grado de diferenciación histológica	
G1	4 (4.2%)
G2	13 (13.7%)
G3	75 (78.9%)
No reportado	3 (3.2%)
Etapa clínica	
I	5 (5.3%)
II	4 (4.2%)
III	22 (23.2%)
IV	62 (65.2%)
Desconocida	2 (2.1%)
Serología antiparietal	
Positiva	8 (8.4%)
Rango indeterminado	6 (6.3%)
Negativa	45 (47.4%)
Pendiente de procesar	36 (37.9%)
Serología anti-HP (antígeno total)	
Positiva	35 (36.8%)
Negativa	60 (63.2%)
Serología contra cagA	
Positivo	2 (2.1%)
Negativo	93 (97.9%)

Tabla 2. Características clínico-patológicas de los pacientes con adenocarcinoma gástrico incluidos en el estudio.

Tipo histológico de Lauren y grado de diferenciación

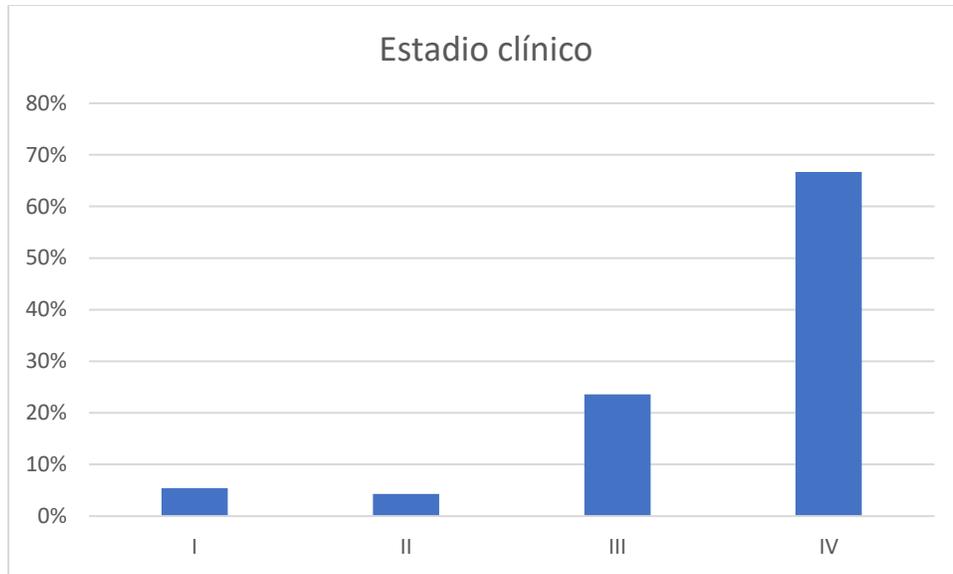
El tipo histológico de Lauren y grado de diferenciación se reportó en 93 y 92 pacientes, respectivamente, y fue de la siguiente manera: 41 pacientes (44.1%) tipo intestinal, 46 (49.5%) tipo difuso y 6 (6.4%) tipo mixto. Cuatro pacientes (4.4%) presentaron grado bien diferenciado, 13 (14.1%) moderadamente diferenciado y 75 (81.5%) pobremente diferenciado (**Gráfica 1**).



Gráfica 1. Distribución de los tipos histológicos de Lauren.

Etapa clínica

El estadio clínico se conoció en 93 pacientes (97.9% del total) y fue: estadio clínico I en cinco pacientes (5.4%), estadio clínico II en cuatro pacientes (4.3%), estadio clínico III en 22 pacientes (23.6%) y estadio clínico IV en 62 pacientes (66.7%) (**Gráfica 2**).



Gráfica 2. Distribución de los pacientes por estadios clínicos.

Serología anti-células parietales gástricas

El estatus serológico de anticuerpos antiparietales fue conocido en 59 pacientes (62.1% del total). Utilizando el punto de corte del fabricante de ≥ 18 U/ml para definir positividad, 8 casos fueron positivos (13.6%) y 51 fueron negativos (86.4%). De los positivos, hubo 4 mujeres (50%) y 4 hombres (50%) ($p=0.716$ por prueba de χ^2). Seis pacientes presentaron un rango indeterminado según el fabricante (12 U/ml – 18 U/ml). Utilizando de manera exploratoria un punto de corte ≥ 12 U/ml para definir positividad, 14 pacientes (23.7%) presentaron serología antiparietal positiva. El título medio de anticuerpos antiparietales fue de 8.88 U/ml (IC 95% de 4.89 U/ml – 12.87 U/ml), con una distribución no normal ($p<0.0001$ por Shapiro-Wilk) (**Figura 4**).

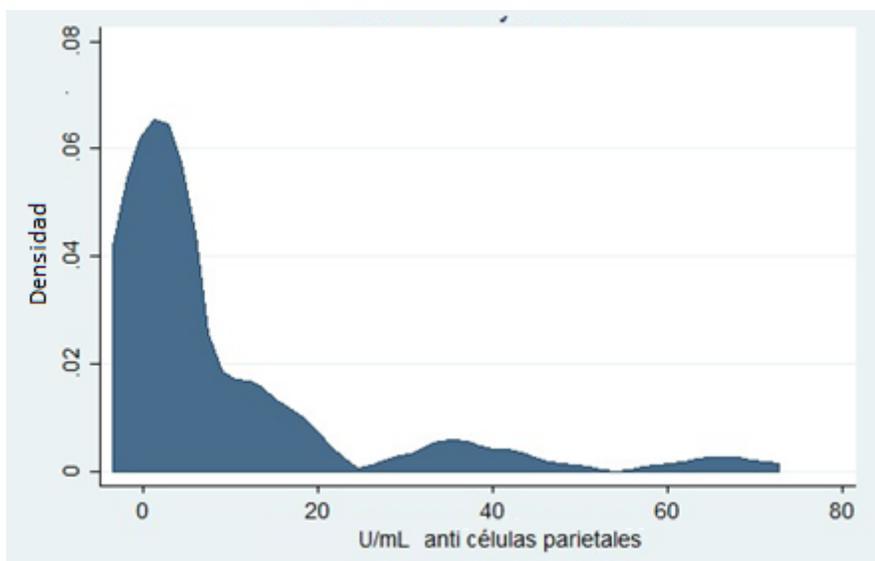


Figura 4. Distribución del título de anticuerpos antiparietales (en U/ml).

Serología anti *Helicobacter pylori* total y cagA+

El estatus serológico de anticuerpos anti-HP total y cagA+ fue conocido en los 95 pacientes (100% del total). Treinta y cinco pacientes (36.8%) presentaron serología positiva contra HP total y dos pacientes (2.1%) presentaron serología positiva contra el antígeno cagA. En las mujeres, la serología contra HP total se presentó en el 39% (16 de 41) y en los hombres en el 35.2% (19 de 54), con una diferencia no significativa ($p=0.701$ por χ^2).

Asociación entre serología antiparietal y anti *Helicobacter pylori*

Para un análisis de asociación entre serología antiparietal y HP total, se excluyeron a los pacientes en quienes no se conoció el estatus de anticuerpos antiparietales, por lo que las pruebas de asociación entre estas dos variables se realizaron en 59 de los 95 pacientes y se utilizó el punto de corte del fabricante (≥ 18 U/ml) para definir positividad para serología antiparietal. El título medio de antiparietales en pacientes con serología anti-HP negativa fue de 10.94 U/ml y en aquellos con serología anti-HP positiva, fue de 5.65 U/ml, con una diferencia no significativa ($p = 0.23$ por U de Mann-Whitney).

Un paciente (1.7%) presentó doble positividad (serología antiparietal y anti-HP), mientras que 29 pacientes (49.2%) fueron negativos para ambos. Siete pacientes con serología antiparietal positiva fueron negativos contra HP total y 22 pacientes con serología

antiparietal negativa presentaron positividad contra HP total (**tabla 3**). Las características clínico-patológicas de los pacientes agrupados por el estatus serológico antiparietal y anti-HP se resumen en la **Tabla 4**.

	Antiparietal positivo	Antiparietal negativo	Total
HP Positivo	1	22	23
HP negativo	7	29	36
Total	8	51	59

Tabla 3. Tabla de contingencia para estatus serológico de anticuerpos antiparietales y anti-HP total.

	AP (+) / HP (+)	AP (+) / HP (-)	AP (-) / HP (+)	AP (-) / HP (-)
Total, n (%)	1 (100%)	7 (100%)	22 (100%)	29 (100%)
Sexo, n (%)				
Masculino	1 (100%)	3 (43%)	12 (55%)	16 (55%)
Femenino	0	4 (57%)	10 (45%)	13 (45%)
Edad, años				
Media	68	62.1	50.1	62.3
Sitio anatómico de origen, n (%)				
Fondo / Cuerpo	0	4 (57.1%)	13 (59.1%)	14 (48.3%)
Antro / Distal	1 (100%)	3 (42.9%)	5 (22.7%)	5 (17.2%)
Cardias / Proximal	0	0	2 (9.1%)	9 (31%)
UGE	0	0	2 (9.1%)	1 (3.5%)
No especificado	0	0	0	0
Tipo histológico de Lauren, n (%)				
Intestinal	1 (100%)	5 (71.4%)	9 (40.9%)	13 (44.8%)
Difuso	0	2 (28.6%)	12 (54.6%)	13 (44.8%)
Mixto	0	0	1 (4.5%)	3 (10.4%)
No especificado	0	0	0	0
Grado de diferenciación histológica, n (%)				
G1	0	1 (14.2%)	1 (4.5%)	0
G2	0	1 (14.2%)	2 (9.2%)	4 (13.8%)
G3	1 (100%)	5 (71.6%)	18 (81.8%)	25 (86.2%)
No especificado	0	0	1 (4.5%)	0

Tabla 4. Características clínicas y patológicas según el estatus serológico para anticuerpos antiparietales (AP) y anti *Helicobacter pylori*, antígeno total (HP).

No se encontró una asociación significativa entre el estatus de positividad para HP total y serología antiparietal, analizados ambos como variable dicotómica, utilizando la prueba exacta de Fisher ($p = 0.100$).

Se buscó de manera exploratoria una asociación entre el título de anticuerpos antiparietales y el título de anti-HP total, ambos expresados como variables numéricas, mediante la prueba de correlación de Spearman y se obtuvo un resultado de -0.15 ($p=0.256$). El gráfico de dispersión se muestra en la **Figura 5**.

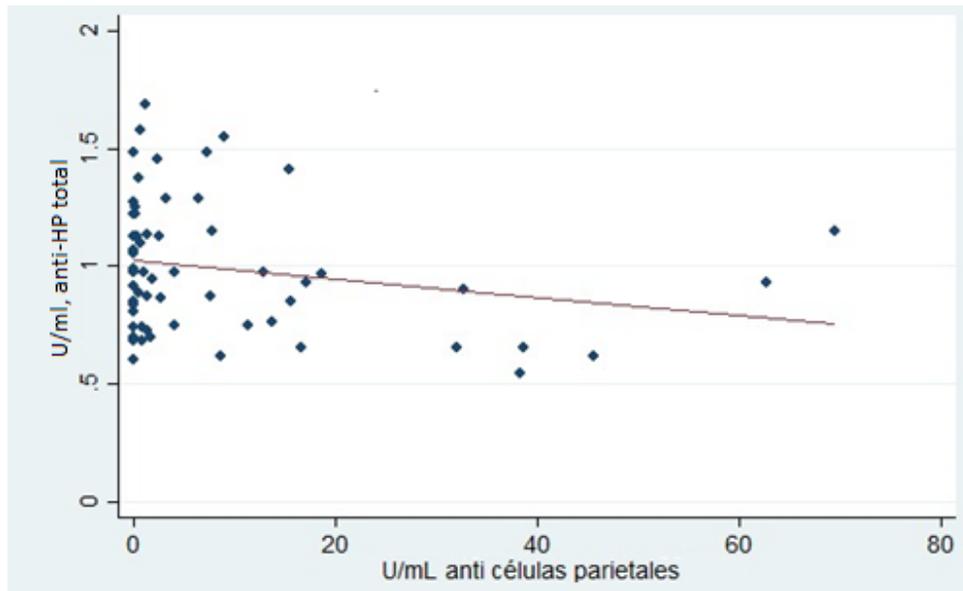


Figura 5. Gráfico de dispersión para asociación entre el título de anticuerpos antiparietales y anti-HP total, ambos como variable numérica en U/ml.

Se procedió a buscar una asociación utilizando el título de anticuerpos antiparietales como variable dicotómica (punto de corte del fabricante ≥ 18 U/ml) y el título de anti-HP total como variable numérica mediante la prueba de U de Mann-Whitney y se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre los grupos ($p=0.038$), **figura 6**.

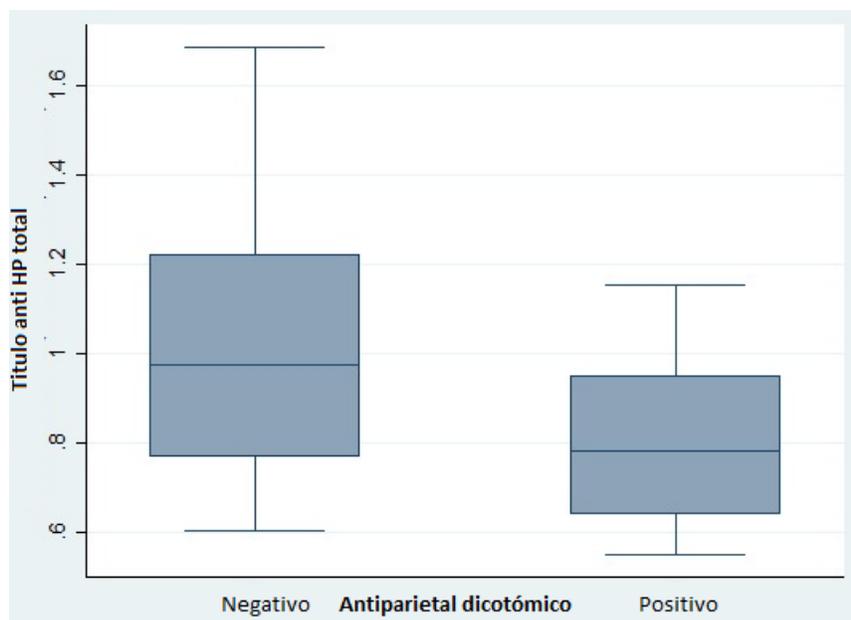


Figura 6. Asociación entre el estatus de positividad de anticuerpos antiparietales (dicotómico) con el título anticuerpos anti-HP total (en U/ml).

Asociación de antígeno cagA+ con otras variables

Solo dos pacientes (2.1%) presentaron positividad para el antígeno cagA. Por el tamaño de la muestra, no se encontró ninguna asociación significativa con otras variables como serología antiparietal, tipo o grado histológicos utilizando las pruebas descritas previamente.

Asociación entre subtipo histológico de Lauren y positividad contra HP total y antiparietales

En los pacientes con tipo intestinal, se presentó positividad de anticuerpos antiparietales en 21.4% (6 de 28) y para HP total en 36.8% (11 de 41). En los pacientes con tipo difuso, se presentó positividad de anticuerpos antiparietales en 7.4% (2 de 27) y para HP total en 45.7% (21 de 46). En los pacientes con tipo mixto, cero de cuatro fueron positivo para serología antiparietal y 16.7% (1 de 6) presentó positividad contra HP total.

El título medio de anticuerpos antiparietales en los pacientes con tipo intestinal fue de 11.6 U/ml (IC de 95% 4.19 U/ml – 19.3 U/ml), en tipo difuso de 6.18 U/ml (IC de 95% de 2.00 U/ml – 10.35 U/ml) y en tipo mixto de 7.62 U/ml (IC de 95% -6.31 U/ml a 21.55 U/ml).

No se encontró asociación entre el tipo histológico de Lauren y el título de anticuerpos antiparietales ($p=0.929$) o de anti-HP ($p=0.326$) mediante la prueba de Kruskal-Wallis.

Asociación entre el grado de diferenciación histológico y el estatus de serología antiparietal y contra HP total

Uno de cuatro pacientes (25%) con grado histológico 1, tres de 13 pacientes (23%) con grado histológico 2 y 28 de 75 (37.3%) pacientes con grado histológico 3 presentaron positividad para serología contra HP total.

Uno de dos pacientes (25%) con grado histológico 1, uno de siete (14.3%) con grado histológico 2, y 6 de 49 (12.2%) con grado histológico 3 presentaron anticuerpos antiparietales positivos. No se encontró asociación entre el grado de diferenciación histológico y el título de anticuerpos antiparietales ($p=0.506$) o de anti-HP total ($p=0.34$) mediante la prueba de Kruskal-Wallis.

Asociación entre la edad y el estatus de serología antiparietal

Se buscó una asociación entre la edad de los pacientes y el título de anticuerpos antiparietales como variables numéricas, sin encontrar un resultado estadísticamente significativo ($p=0.87$) mediante la prueba de coeficiente de correlación de Spearman. El gráfico de dispersión se muestra en la **Figura 7**.

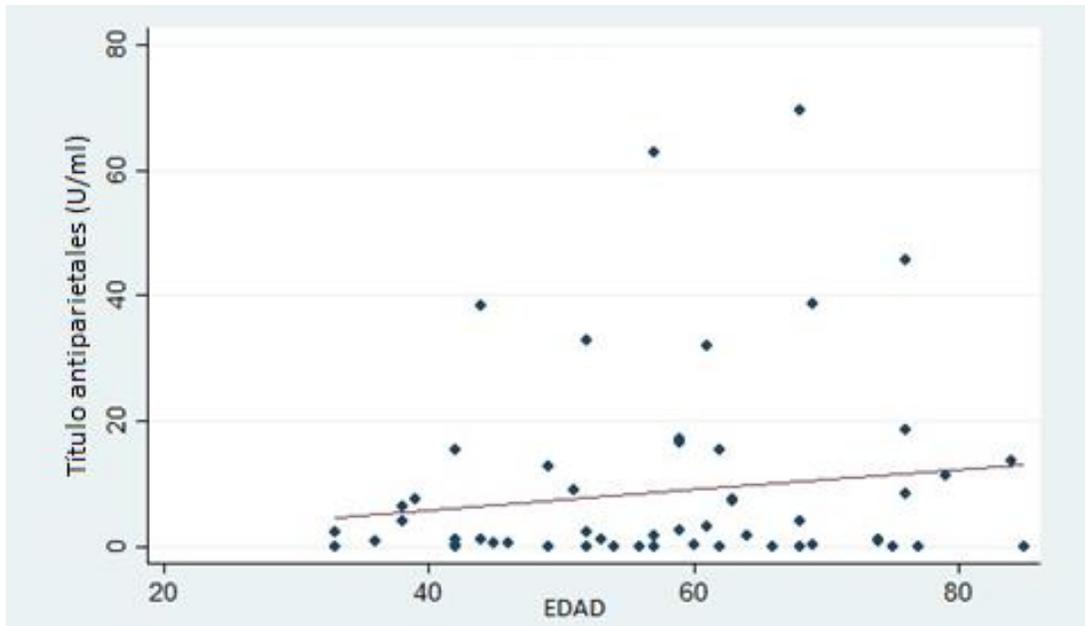


Figura 7. Gráfico de dispersión para asociación entre la edad de los pacientes (en años) con el título de anticuerpos antiparietales (en U/ml).

Se exploró adicionalmente una asociación entre la edad como variable dicotómica (≤ 50 años y > 50 años) con el título de anticuerpos antiparietales. 17 de 18 (94.5%) pacientes ≤ 50 años fueron negativos para anticuerpos antiparietales y 34 de 41 (82.9%) pacientes > 50 años fueron negativos para anticuerpos antiparietales. No se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre estos subgrupos ($p=0.234$ por χ^2).

VIII. DISCUSIÓN

El presente estudio realizado en el Instituto Nacional de Cancerología es, en el mejor de nuestro conocimiento, el primero en México en determinar de manera conjunta la prevalencia de anticuerpos antiparietales y anti-HP total/cagA+ en pacientes con adenocarcinoma gástrico. La prevalencia de anticuerpos antiparietales del 13.6% resultó similar al 7.2% y 17.6% reportada en un estudio de casos de cáncer gástrico anidado en dos cohortes finlandesas [33].

La prevalencia de anticuerpos anti-HP total del 36.8% es menor a la reportada en otros estudios en pacientes con cáncer gástrico. En un estudio realizado en Guatemala se reportó del 50.8% [52] y en el estudio finlandés de dos cohortes mencionado previamente, se reportó del 87.3% y del 74.5% [33]. La prevalencia también resultó inferior a la tasa de infección por HP del 52.5% reportado previamente en población general mexicana [53]. Es probable que las diferentes tasas de positividad encontradas en estos estudios sean reflejo de la menor prevalencia de infección por HP en décadas recientes. El estudio finlandés incluyó dos cohortes de personas nacidas de 1916 a 1939 y de 1938 a 1989, respectivamente, mientras que el estudio guatemalteco se realizó en 2015 e incluyó pacientes con una media de edad de 59.5 años.

La serología anti-cagA fue positiva en el 2.1% de nuestros pacientes, una cifra menor al compararse con lo reportado en un estudio de casos y controles mexicano, que reportó una prevalencia del 78.7% en los casos de cáncer gástrico y del 65.9% en los controles [20]. En el estudio guatemalteco mencionado previamente, se reportó en los casos una prevalencia de anticuerpos anti-cagA del 73.1%. La cepa de HP cagA+ es de mayor riesgo carcinogénico por lo que esperábamos una prevalencia más alta en nuestros pacientes. Entre las posibles explicaciones para este hallazgo está la utilización de diferentes antígenos cagA por los laboratorios o el punto de corte para definir positividad.

No se encontraron asociaciones significativas entre el tipo histológico de Lauren, grado de diferenciación histológica o edad y el estatus serológico de anticuerpos antiparietales

o anti-HP total/cagA+. Un análisis exploratorio encontró un menor título de anticuerpos anti-HP total en pacientes con positividad para anticuerpos antiparietales. Nuestros hallazgos concuerdan con los de un estudio de casos y controles en Alemania en el que reportaron una tasa de seropositividad contra HP del 35% en los casos de cáncer gástrico que además presentaban hallazgos clínico-patológicos de GAI, y del 77% en los pacientes sin datos de GAI [54]. Existe plausibilidad biológica de presentar un mayor riesgo de adenocarcinoma gástrico asociado a la presencia de anticuerpos antiparietales en ausencia de infección por HP. Nuestros hallazgos son relevantes ya que la incidencia de enfermedades autoinmunes en países industrializados ha incrementado en el periodo en el que se ha observado una mayor incidencia de cáncer gástrico en personas menores de 50 años, pese a un descenso en la prevalencia de infección por HP. Al ser un análisis exploratorio debe interpretarse con cautela y considerarse como un hallazgo generador de hipótesis para futuros estudios.

El estudio presenta limitantes por su naturaleza retrospectiva y el tamaño de muestra. El estatus de serología antiparietal fue conocido en solo el 62.1% de los pacientes debido a que al momento del análisis estadístico aún no se procesaban todas las muestras. El equipo investigador planea realizar la determinación de serología antiparietal en los casos faltantes una vez que se tenga un mayor número de pacientes para analizar, lo que incrementaría el poder estadístico de nuestro estudio. Al no incluir un grupo de personas sin cáncer, no fue posible comparar la prevalencia de seropositividad con controles y estimar una razón de momios.

IX. CONCLUSIÓN

En el presente estudio observacional realizado en el Instituto Nacional de Cancerología de México, se encontró una prevalencia de anticuerpos antiparietales del 13.6% en pacientes con adenocarcinoma gástrico, similar a lo reportado en la literatura internacional. No se demostró una asociación significativa entre el tipo histológico de Lauren, el grado de diferenciación histológica y la edad con la presencia de anticuerpos antiparietales o anti-HP total. Se identificó de manera estadísticamente significativa un menor título de anticuerpos anti-HP total en los pacientes con serología antiparietal positiva. Debido a que existe plausibilidad biológica, nuestros hallazgos apoyan la hipótesis de los anticuerpos antiparietales séricos como un factor de riesgo emergente para adenocarcinoma gástrico en ausencia de infección por *Helicobacter pylori*. Se requieren estudios adicionales para estimar el riesgo de desarrollar adenocarcinoma gástrico atribuible a la presencia de anticuerpos antiparietales en suero y explorar si existe alguna interacción con los anticuerpos anti-HP.

X. REFERENCIAS

1. Sung, H., J. Ferlay, and R.L. Siegel, *Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries*. 2021. **71**(3): p. 209-249.
2. Lauren, P., *THE TWO HISTOLOGICAL MAIN TYPES OF GASTRIC CARCINOMA: DIFFUSE AND SO-CALLED INTESTINAL-TYPE CARCINOMA. AN ATTEMPT AT A HISTO-CLINICAL CLASSIFICATION*. Acta Pathol Microbiol Scand, 1965. **64**: p. 31-49.
3. Hooi, J.K.Y., et al., *Global Prevalence of Helicobacter pylori Infection: Systematic Review and Meta-Analysis*. Gastroenterology, 2017. **153**(2): p. 420-429.
4. Luo, G. and Y. Zhang, *Global patterns and trends in stomach cancer incidence: Age, period and birth cohort analysis*. 2017. **141**(7): p. 1333-1344.
5. Anderson, W.F., et al., *Age-specific trends in incidence of noncardia gastric cancer in US adults*. Jama, 2010. **303**(17): p. 1723-8.
6. Bergquist, J.R., et al., *Early-onset gastric cancer is a distinct disease with worrisome trends and oncogenic features*. Surgery, 2019. **166**(4): p. 547-555.
7. Anderson, W.F., et al., *The Changing Face of Noncardia Gastric Cancer Incidence Among US Non-Hispanic Whites*. J Natl Cancer Inst, 2018. **110**(6): p. 608-615.
8. Calderillo-Ruiz, G., et al., *Gastric cancer in young Latin women: bad prognostic factors and outcomes*. Annals of Oncology, 2019. **30**: p. iv39.
9. Correa, P. and M.B. Piazuelo, *The gastric precancerous cascade*. J Dig Dis, 2012. **13**(1): p. 2-9.
10. Rugge, M., et al., *Gastric mucosal atrophy: interobserver consistency using new criteria for classification and grading*. Aliment Pharmacol Ther, 2002. **16**(7): p. 1249-59.
11. Song, H., et al., *Incidence of gastric cancer among patients with gastric precancerous lesions: observational cohort study in a low risk Western population*. BMJ : British Medical Journal, 2015. **351**: p. h3867.
12. Hoft, S.G., C.N. Noto, and R.J. DiPaolo, *Two Distinct Etiologies of Gastric Cancer: Infection and Autoimmunity*. Front Cell Dev Biol, 2021. **9**: p. 752346.
13. Malfertheiner, P., et al., *Management of Helicobacter pylori infection--the Maastricht IV/ Florence Consensus Report*. Gut, 2012. **61**(5): p. 646-64.
14. Müller, H., et al., *Healing of active, non-atrophic autoimmune gastritis by H. pylori eradication*. Digestion, 2001. **64**(1): p. 30-9.
15. Yong, X., et al., *Helicobacter pylori virulence factor CagA promotes tumorigenesis of gastric cancer via multiple signaling pathways*. Cell Commun Signal, 2015. **13**: p. 30.
16. Yamaoka, Y., *Mechanisms of disease: Helicobacter pylori virulence factors*. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2010. **7**(11): p. 629-41.
17. van Doorn, L.J., et al., *Clinical relevance of the cagA, vacA, and iceA status of Helicobacter pylori*. Gastroenterology, 1998. **115**(1): p. 58-66.
18. Hatakeyama, M. and H. Higashi, *Helicobacter pylori CagA: a new paradigm for bacterial carcinogenesis*. Cancer Sci, 2005. **96**(12): p. 835-43.
19. Maeda, S., et al., *Major virulence factors, VacA and CagA, are commonly positive in Helicobacter pylori isolates in Japan*. Gut, 1998. **42**(3): p. 338-343.

20. López-Carrillo, L., et al., *Helicobacter pylori*-CagA seropositivity and nitrite and ascorbic acid food intake as predictors for gastric cancer. *Eur J Cancer*, 2004. **40**(11): p. 1752-9.
21. Censini, S., et al., *cag*, a pathogenicity island of *Helicobacter pylori*, encodes type I-specific and disease-associated virulence factors. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1996. **93**(25): p. 14648-53.
22. Hayashi, T., et al., *Tertiary structure-function analysis reveals the pathogenic signaling potentiation mechanism of Helicobacter pylori oncogenic effector CagA*. *Cell Host Microbe*, 2012. **12**(1): p. 20-33.
23. Backert, S., N. Tegtmeyer, and M. Selbach, *The versatility of Helicobacter pylori CagA effector protein functions: The master key hypothesis*. *Helicobacter*, 2010. **15**(3): p. 163-76.
24. Ohnishi, N., et al., *Transgenic expression of Helicobacter pylori CagA induces gastrointestinal and hematopoietic neoplasms in mouse*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008. **105**(3): p. 1003-8.
25. Lindholm, C., et al., *Local cytokine response in Helicobacter pylori-infected subjects*. *Infect Immun*, 1998. **66**(12): p. 5964-71.
26. Nurgalieva, Z.Z., et al., *B-cell and T-cell immune responses to experimental Helicobacter pylori infection in humans*. *Infection and immunity*, 2005. **73**(5): p. 2999-3006.
27. Osaki, L.H. and K.A. Bockerstett, *Interferon- γ directly induces gastric epithelial cell death and is required for progression to metaplasia*. 2019. **247**(4): p. 513-523.
28. Neumann, W.L., et al., *Autoimmune atrophic gastritis—pathogenesis, pathology and management*. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 2013. **10**(9): p. 529-541.
29. Carabotti, M., et al., *Upper gastrointestinal symptoms in autoimmune gastritis: A cross-sectional study*. *Medicine (Baltimore)*, 2017. **96**(1): p. e5784.
30. Toh, B.H., *Diagnosis and classification of autoimmune gastritis*. *Autoimmun Rev*, 2014. **13**(4-5): p. 459-62.
31. D'Ellos, M.M., et al., *H⁺,K⁺-ATPase (proton pump) is the target autoantigen of Th1-type cytotoxic T cells in autoimmune gastritis*. *Gastroenterology*, 2001. **120**(2): p. 377-386.
32. McHugh, R.S., et al., *A T cell receptor transgenic model of severe, spontaneous organ-specific autoimmunity*. *Eur J Immunol*, 2001. **31**(7): p. 2094-103.
33. Song, M., et al., *Association of Antiparietal Cell and Anti-Intrinsic Factor Antibodies With Risk of Gastric Cancer*. *JAMA Oncol*, 2022. **8**(2): p. 268-274.
34. Waldum, H.L. and R. Fossmark, *Role of Autoimmune Gastritis in Gastric Cancer*. *Clinical and translational gastroenterology*, 2019. **10**(9): p. e00080-e00080.
35. Annibale, B., E. Lahner, and G.D. Fave, *Diagnosis and management of pernicious anemia*. *Curr Gastroenterol Rep*, 2011. **13**(6): p. 518-24.
36. Nishizawa, T., et al., *Decreased anti-parietal cell antibody titer in the advanced phase of autoimmune gastritis*. 2022. **57**(2): p. 143-148.
37. Ekström, A.M., et al., *Helicobacter pylori in gastric cancer established by CagA immunoblot as a marker of past infection*. *Gastroenterology*, 2001. **121**(4): p. 784-91.
38. Rusak, E., et al., *Anti-parietal cell antibodies – diagnostic significance*. *Advances in Medical Sciences*, 2016. **61**(2): p. 175-179.
39. Ismail, H.F., et al., *Depletion of Neutrophils in IL-10 mice Delays Clearance of Gastric Helicobacter Infection and Decreases the Th1 Immune Response to Helicobacter*. *The Journal of Immunology*, 2003. **170**(7): p. 3782-3789.
40. Weck, M.N. and H. Brenner, *Association of Helicobacter pylori infection with chronic atrophic gastritis: Meta-analyses according to type of disease definition*. *Int J Cancer*, 2008. **123**(4): p. 874-81.
41. Claeys, D., et al., *The gastric H⁺ K⁺ATPase is a major autoantigen in chronic Helicobacter pylori gastritis with body mucosa atrophy*. *Gastroenterology*, 1998. **115**(2): p. 340-347.

42. Faller, G. and T. Kirchner, *Immunological and morphogenic basis of gastric mucosa atrophy and metaplasia*. Virchows Arch, 2005. **446**(1): p. 1-9.
43. Amedei, A., et al., *Molecular mimicry between Helicobacter pylori antigens and H+, K+ -- adenosine triphosphatase in human gastric autoimmunity*. J Exp Med, 2003. **198**(8): p. 1147-56.
44. Bergman, M.P. and M.M. D'Elios, *Cytotoxic T cells in H. pylori-related gastric autoimmunity and gastric lymphoma*. Journal of biomedicine & biotechnology, 2010. **2010**: p. 104918-104918.
45. Callaghan, J.M., et al., *Alpha and beta subunits of the gastric H+/K(+)-ATPase are concordantly targeted by parietal cell autoantibodies associated with autoimmune gastritis*. Autoimmunity, 1993. **16**(4): p. 289-95.
46. Uibo, R., et al., *Association of Helicobacter pylori and gastric autoimmunity: a population-based study*. FEMS Immunol Med Microbiol, 1995. **11**(1): p. 65-8.
47. Archimandritis, A., et al., *Expression of HLA-DR, costimulatory molecules B7-1, B7-2, intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) and Fas ligand (FasL) on gastric epithelial cells in Helicobacter pylori gastritis; influence of H. pylori eradication*. Clinical and experimental immunology, 2000. **119**(3): p. 464-471.
48. Stolte, M., E. Meier, and A. Meining, *Cure of autoimmune gastritis by Helicobacter pylori eradication in a 21-year-old male*. Z Gastroenterol, 1998. **36**(8): p. 641-3.
49. Youssefi, M., et al., *Helicobacter pylori infection and autoimmune diseases; Is there an association with systemic lupus erythematosus, rheumatoid arthritis, autoimmune atrophy gastritis and autoimmune pancreatitis? A systematic review and meta-analysis study*. J Microbiol Immunol Infect, 2021. **54**(3): p. 359-369.
50. Ohana, M., et al., *Inhibitory effects of Helicobacter pylori infection on murine autoimmune gastritis*. Gut, 2003. **52**(8): p. 1102-10.
51. Camorlinga-Ponce, M., et al., *Validation of a serologic test for the diagnosis of Helicobacter pylori infection and the immune response to urease and CagA in children*. Am J Gastroenterol, 1998. **93**(8): p. 1264-70.
52. Fernandez-Botran, R., et al., *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*. Am J Trop Med Hyg, 2020. **103**(1): p. 260-265.
53. Bosques-Padilla, F.J., et al., *IV consenso mexicano sobre Helicobacter pylori*. Revista de Gastroenterología de México, 2018. **83**(3): p. 325-341.
54. Weise, F., et al., *Gastric cancer in autoimmune gastritis: A case-control study from the German centers of the staR project on gastric cancer research*. 2020. **8**(2): p. 175-184.