



UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
PROGRAMA DE BACTERIOLOGÍA Y LABORATORIO CLÍNICO

TRABAJO DE GRADO

Ancestría del hospedero versus *Helicobacter pylori* como factor de riesgo para el cáncer gástrico en Colombia

Presentado por: Laura Daniela Martínez Hernández, Erika Sofía Zuluaga Sastoque

Asesor: Esperanza Trujillo Química, MSc. Bioquímica

Bogotá D.C 2020

Contenido

01 Introducción

03 Análisis

02 Objetivos

04 Conclusiones

Nuestra recompensa se encuentra en el esfuerzo y no en el resultado. Un esfuerzo total es una victoria completa.

Mahatma Gandhi.

The image features a monochromatic reddish-orange background with several 3D-rendered bacteria. The most prominent is a large, rod-shaped bacterium in the foreground, covered in fine, hair-like flagella. To its right, another rod-shaped bacterium has several long, thin, wavy flagella extending from its ends. Other smaller, rod-shaped bacteria are scattered in the background, some with flagella and others without. The overall scene is a microscopic view of diverse bacterial species.

Introducción

Helicobacter pylori

- Bacteria gram negativa de forma espiralada
- Tiene de 3-6 flagelos
- Mide entre 2 a 4 μm de largo y de 0,5 a 1 μm de ancho
- Sus colonias son pequeñas, brillantes y traslúcidas

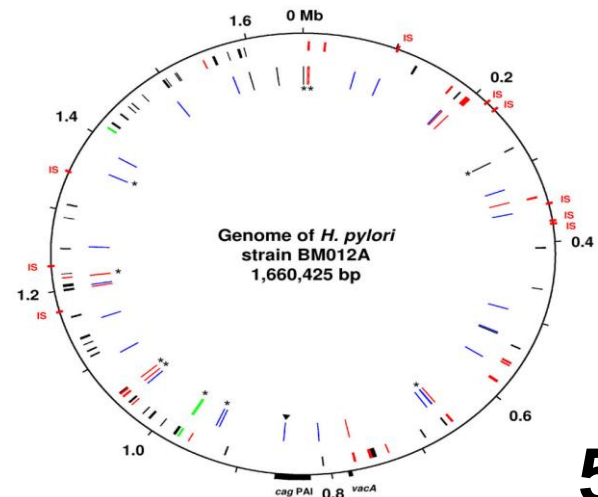
La infección causa
úlceras, gastritis crónicas,
linfomas y CG



Trasmisión, oral-
oral, oral-fecal y
gastro-oral

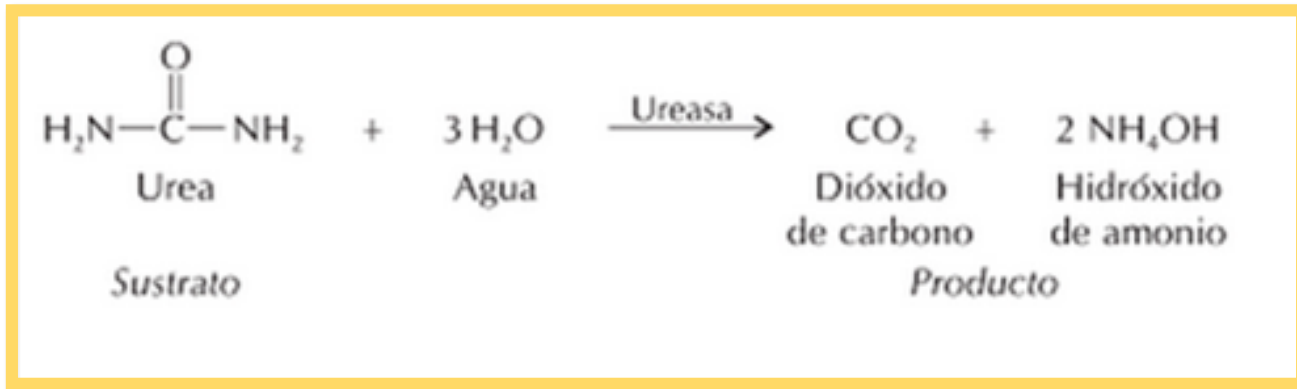
Genoma bacteriano

- ★ Consiste en un **cromosoma circular** de un tamaño de 1.660.425 pares de bases (pb) y alrededor de 1.500 genes.
- ★ Se han identificado en el genoma de *H.p.* varios genes asociados a la patogenicidad como, **vacA**, **cagA** y **cagPAI**
- ★ El genoma de la *H.p.* tiene alta **diversidad genómica**



Factores de virulencia *Helicobacter pylori*

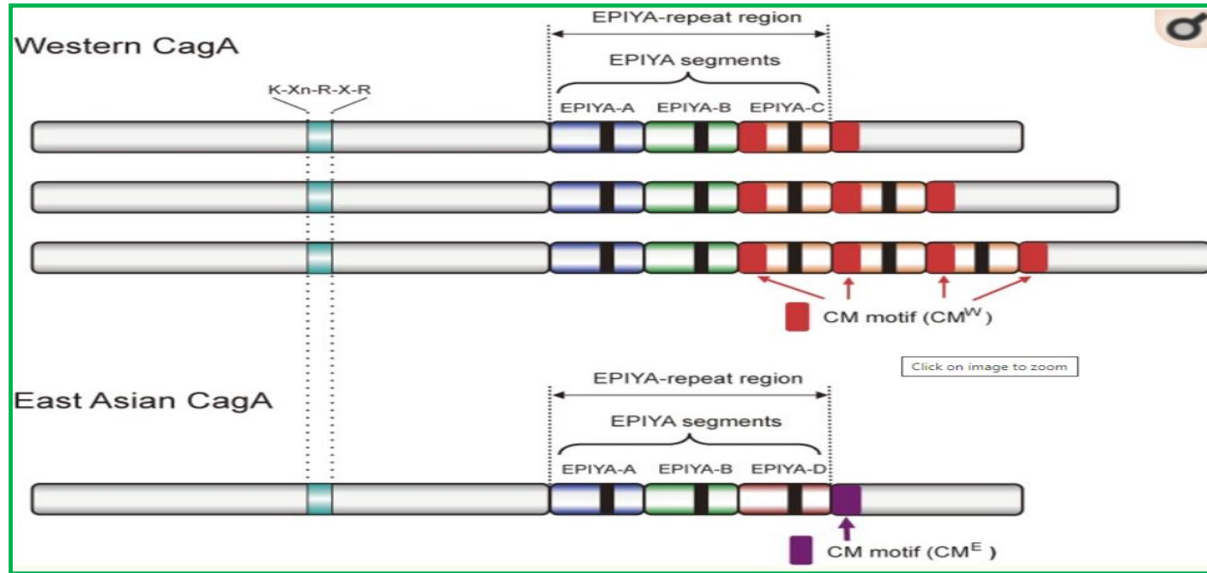
Ureasa: es la enzima encargada de la supervivencia de *H.p.* en el medio ácido



pH

Estudios en modelos experimentales demuestran que cepas mutantes ureasa-negativas son incapaces de colonizar la mucosa

Factores de virulencia *Helicobacter pylori*



CagA: Oncoproteína, daño en la morfología celular
Estas diferencias en dominios EPIYA se ven reflejadas
en su activación y potencial oncogénico

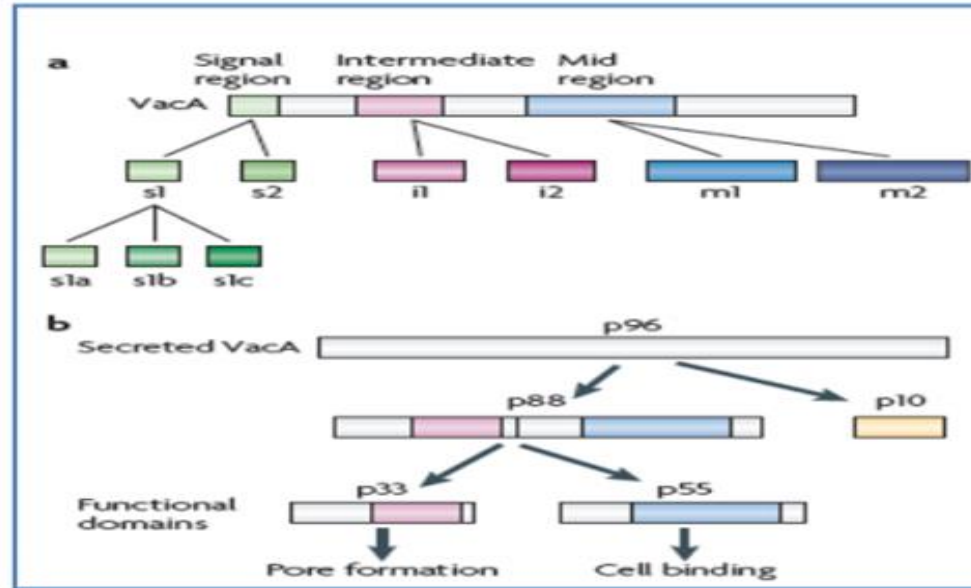
Isla de patogenicidad cagPAI

El *cagPAI* es un determinante de virulencia de *H.p.*

- ✓ Está compuesta por un genoma de 40 kb y presenta un tipo de secreción tipo IV (T4SS) para realizar la inyección del factor de virulencia *cagA* a la célula epitelial gástrica.

- ✓ Está presente en el 60-70% de las cepas de *H.p.* Occidentales y prácticamente en el 100% de las cepas de Asia oriental
- ✓ Aumentan el riesgo de producir gastritis severa, atrofia, displasia y cáncer gástrico a diferencia de las cepas de *H.p. cagPAI* negativas

Factores de virulencia *Helicobacter pylori*



VacA: Citotoxina encargada de la vacuolización celular


Factores de virulencia *Helicobacter pylori*

Factores de adherencia: Proteínas de membrana externa. Aseguran la unión de *H.p.* a las células del hospedero, protegerse de la acidez gástrica e inhibir los factores de limpieza.

AlpA y AlpB

Ancestría

Proporcionan información sobre el posible origen de nuestros antepasados, al comparar nuestro material genético con el de poblaciones de referencia que presentan un origen geográfico y etnicidad conocidos.



La ancestría a permitido observar que *Helicobacter pylori* ha acompañado al ser humano desde sus inicios, esta interacción huésped – patógeno ha generado una respuesta patógena en algunos individuos infectados. La filogenia *H.p.* estudiada en ciertas regiones a permitido encontrar una **asociación con el CG.**

Genes Housekeeping

Son genes estructurales que nos permiten el estudio de ancestría y evolución de poblaciones de *H.p.*

atpA, efp, mutY, ppa, trpC, urel, yphC, más el *vacA*

- hpEurope 1
- hpEurope 2
- hpEastAsia
- hpAfrica 1
- hpAfrica 2
- hpSahul

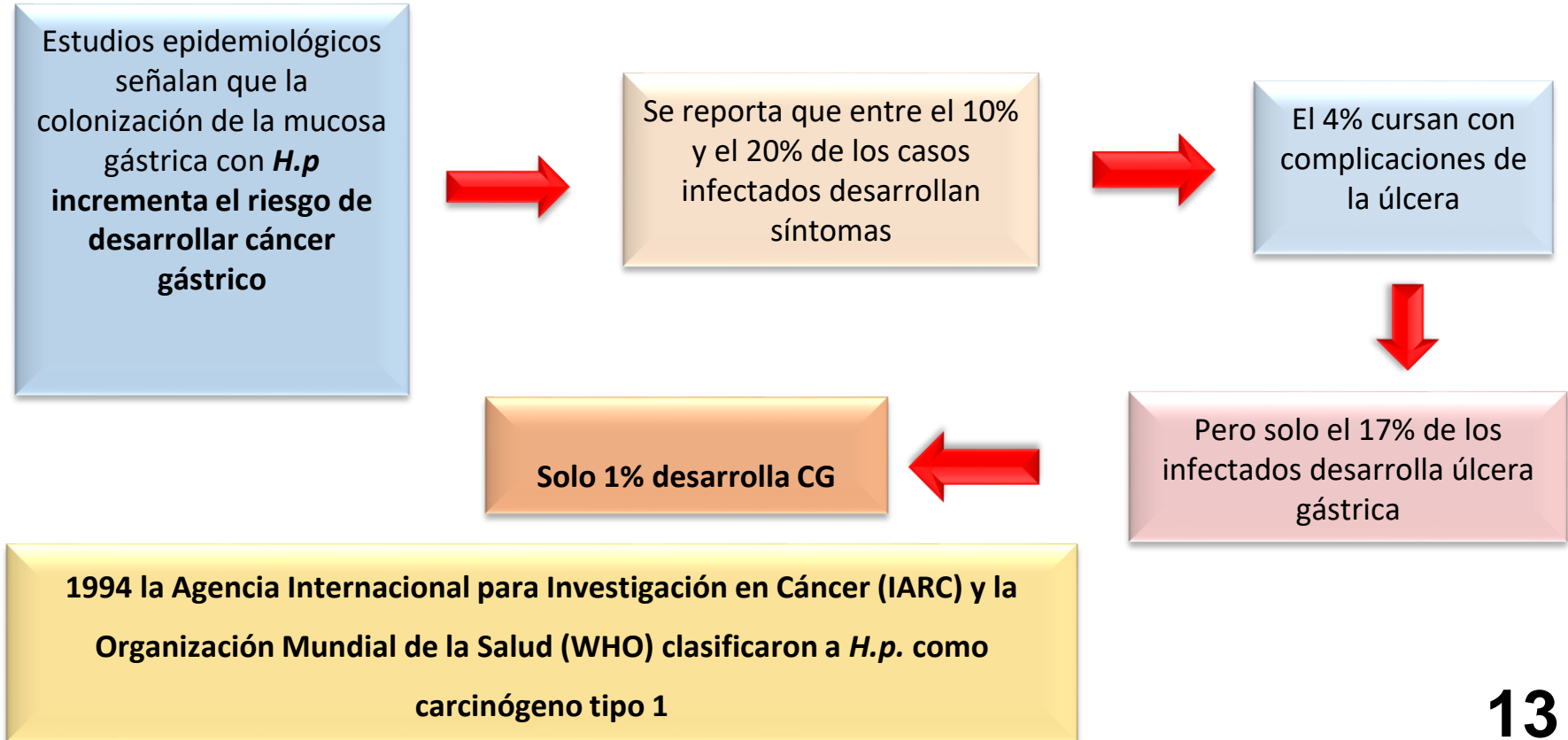
hpEasAsia

hspAmerind, hspEAsia y hspMaori

hpAfrica 1

hspWAfrica y hspSAfrica

Helicobacter pylori y el cáncer gástrico

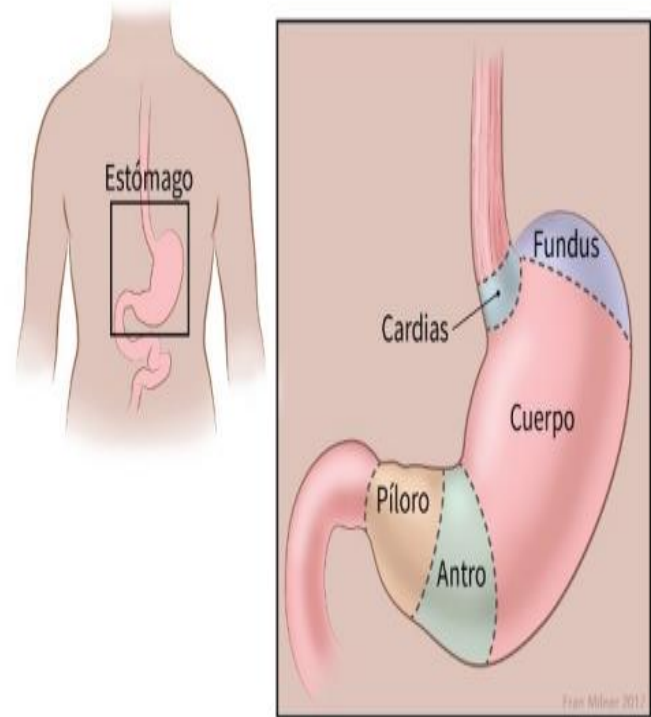


Desarrollo del cáncer gástrico

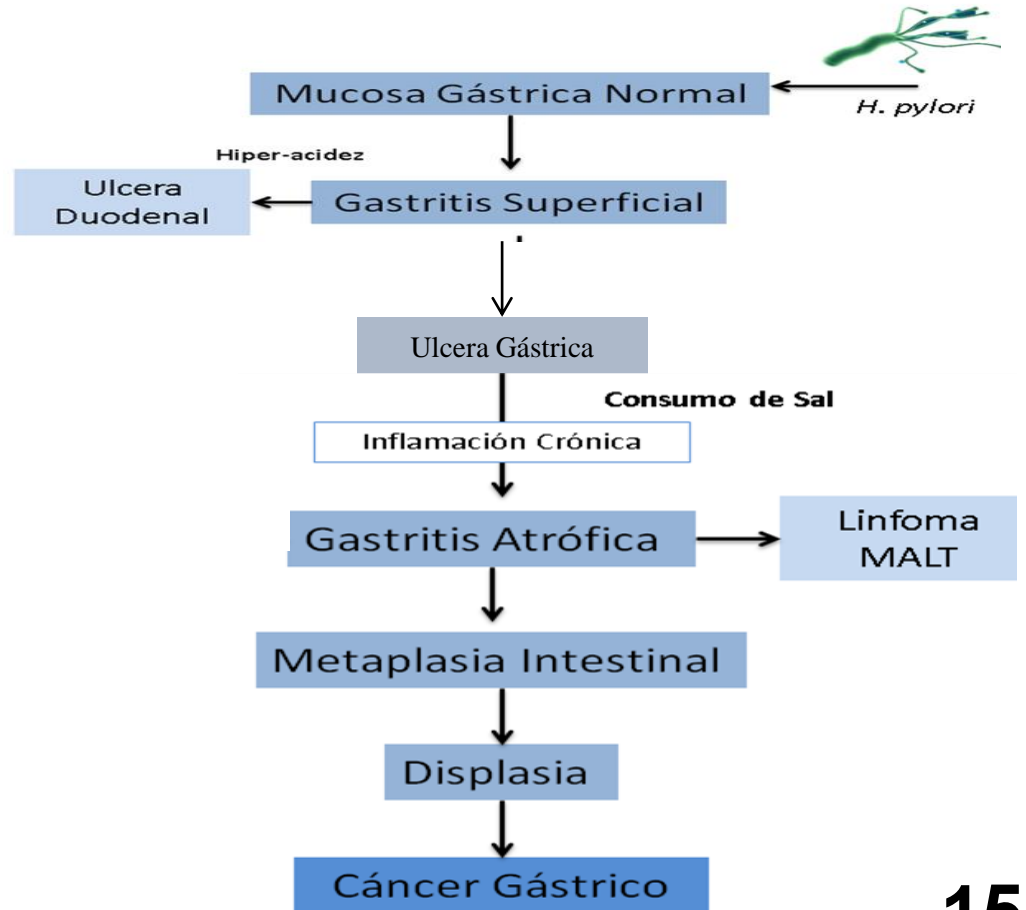
El cáncer es generado por una anomalía en el ADN, donde se observa un crecimiento celular descontrolado que causa una obstrucción y formación de tumores en el tejido

El CG principalmente inicia con un adenocarcinoma

Y puede avanzar hasta el cardias que es la parte superior del estómago



Cascada de la generación de cáncer gástrico

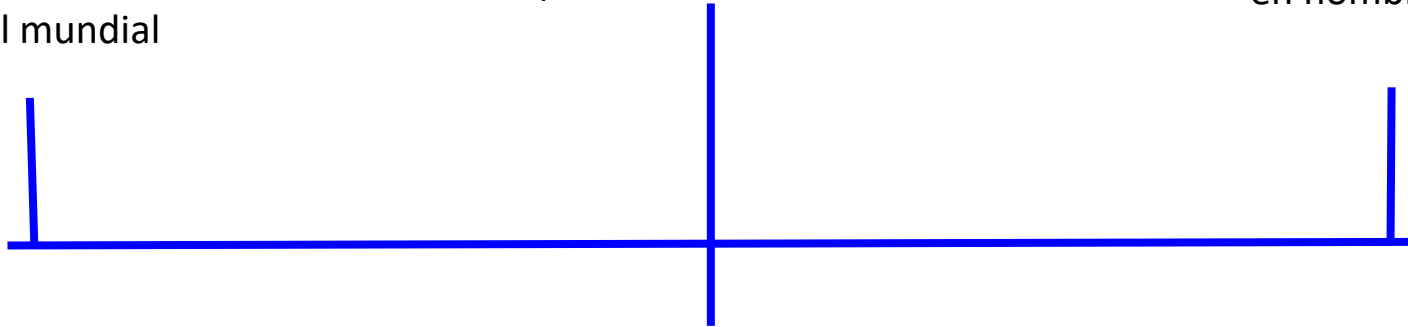


Cáncer Gástrico

Ocupa el quinto lugar
a nivel mundial

Mayor incidencia en
países en desarrollo

Es más prevalente
en hombres



Aproximadamente el 95% de los casos de CG
corresponden a adenocarcinomas y el 5% restante
se asocia con: linfomas, sarcomas y tumores
carcinoides

Pregunta problema

¿Qué relación tendrá la ancestría de las cepas de *Helicobacter pylori* en la población colombiana, que presenta lesiones preneoplásicas y cáncer gástrico por esta infección?

Objetivo general

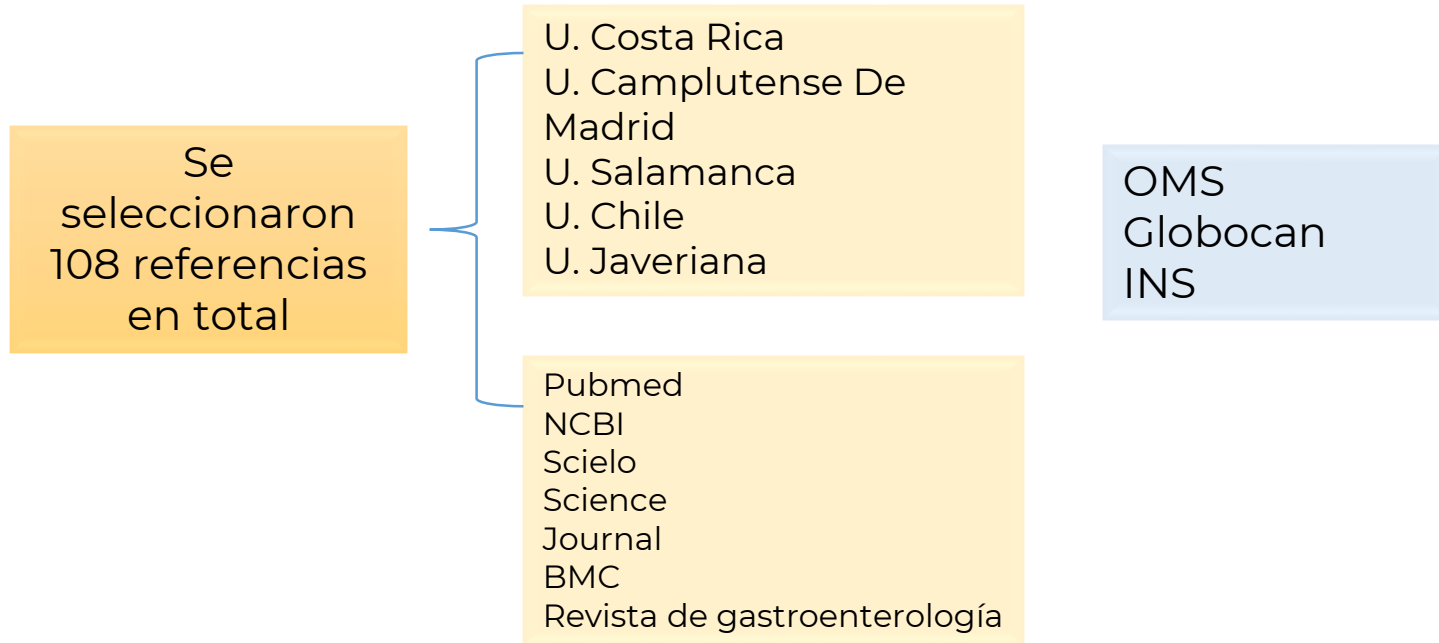
Fundamentar la correlación que existe entre la ancestría de *H.p.* proveniente de Europa y África y la población colombiana con enfermedad gástrica

Objetivos específicos

- ❑ Identificar la ancestría de *Helicobacter pylori* y evolución dentro de su huésped
- ❑ Analizar la relación que existe entre la bacteria *Helicobacter pylori* y su importancia en el desarrollo de lesiones preneoplásicas y cáncer gástrico
- ❑ Determinar el origen filogeográfico de las cepas de *Helicobacter pylori* halladas en Colombia y su relación con la alta prevalencia de cáncer en algunas zonas del país.

Metodología

Literatura Revisada



A microscopic view of several different types of bacteria. In the center, there is a large, oval-shaped bacterium covered in fine, hair-like flagella. To its left is a smaller, teardrop-shaped bacterium with a few flagella. Above it is another oval bacterium with a few flagella. To the right, there is a long, thin, curved bacterium with several flagella. In the bottom right corner, there is a small, rod-shaped bacterium with a few flagella. The background is a light, hazy purple.

Análisis de resultados

Se seleccionaron 32 artículos los cuales se dividieron en 3 temas, titulados: ancestría de *H.p.*, *H.p.* y CG y finalmente CG en Colombia



Encontramos que hasta la fecha existen muchos estudios que han buscado identificar los factores de virulencia, factores ambientales y factores del ser humano que proporcionen una información clara y concisa acerca del desarrollo del CG

En cuanto a los factores de virulencia evidenciamos que en gran parte de los estudios indican que el factor mas importante y mas patogénico era la **proteína CagA+** acompañada de la **proteína VacA+** que esta presente en todas las cepas de *H.p.*

Factores de virulencia

Bartpho et al. 2010

Muestra la relación entre los factores de virulencia y el desarrollo de CG, utilizando PCR en tiempo real para analizar algunos genes.

vacA, estuvo presente en pacientes con gastritis crónica en un 73%, seguido de cagA en un 68%, babA2 59%, oipA 27%, iceA2 9%

Se encontró que la combinación de los genotipos vacA+/babA2+/oipA+ de *H.p* se asociaron con una tasa de riesgo 4,3 veces mayor de generar CG.

Amieva et al. 2015

Hicieron una revisión principalmente de los factores de virulencia más descritos y coinciden con que el gen cagA+ se encuentra ubicado en la isla de patogenicidad y solo esta presente en las cepas de *H.p* virulentas.



La presencia de la proteína cagA (cagPAI +) aumenta en un 60% el riesgo de generar:

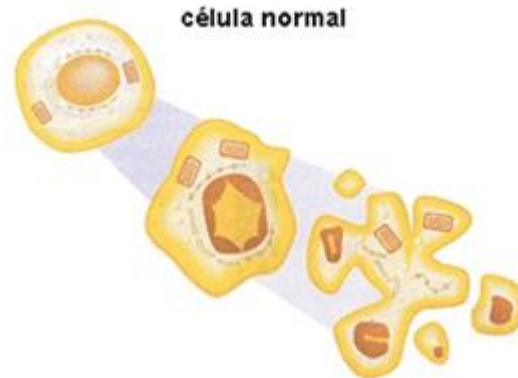
Gastritis severa, atrofia, displasia y adenocarcinoma gástrico

Takahashi et al. 2019

Para Takahashi y su equipo la proteína CagA es fundamental y necesaria para la generación de alteraciones genéticas que conducen a la carcinogénesis en múltiples pasos que se desarrollan a través del tiempo dando como resultado



- Cambios morfológicos
- Pérdida de polaridad
- Defectos de unión



Falush, et al. 2003

En este estudio utilizaron la herramienta STRUCTURE en una muestra global de aislamientos de *H.p.* en busca de definir poblaciones y reconstruir sus fuentes ancestrales

Con este programa identificaron diferentes poblaciones de la bacteria, hpAfrica1, hpAfrica2, hpEastAsia y hpEurope.

En otros análisis que realizaron dividieron hpEastAsia en hspAmerind, hspEAsia y hspMaori y hpAfrica1 en hspWAfrica y hspSAfrica

No lograron definir subpoblaciones de hpEurope, esto puede deberse a una historia compleja de Europa, dada por oleadas de migración

Ancestría de *Helicobacter pylori* en America

En países como Perú, Chile, México, Nicaragua entre otros, se han realizado estudios acerca de su acervo genético, concentrándose en estudiar la ancestría de las bacterias.

Devi, et al. 2006



Quisieron investigar los orígenes genéticos de *H.p* de peruanos nativos y su comparación genómica con aislamientos de España y Japón.

Buscaron si es posible vincular algunas de las cepas nativas peruanas con sus ancestros en Asia.

El resultado indica una posible adquisición de CagPAI de las cepas europeas a las cepas hspAmerind durante la década de colonización

Sin embargo todas estas cepas independientemente de su filiación ancestral albergan cagPAI de tipo occidental

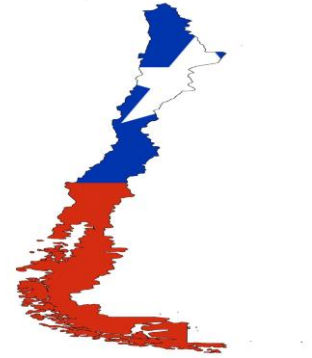
Observaron que el genotipo europeo (hpEurope) predomina en las cepas nativas peruanas (cepas virulentas) y aproximadamente el 20% de estas, representan una subpoblación de ascendencia amerindia (hpAmerind).

Frías et al, 2010

Investigaron evidencias en torno al origen de la infección por *H.p* en población chilena a través de análisis filogenético y diversidad genética

El análisis filogenético del gen *trpC* revela la formación de 3 grupos bacterianos: hpEAsia, hpAfrica1 y hpAfrica2. La hpEurope se encuentra distribuida en todo el árbol filogenético con mayor número de muestras.

vacA muestra una distribución menos clara, se encuentra que las poblaciones hpAfrica 1, hpAfrica2 y hspAmerind se encuentran dispersas en el árbol filogenético, al igual hpEurope



Las cepas chilenas se agrupan con hpAfrica1 y hpEurope en su mayoría, confirmando el fuerte componente europeo de *H.p* en la población chilena actual.



Esto se puede explicar por la conquista europea y posterior colonización europea en el continente americano hace más de 500 años. Esto puede pasar por



Competencia entre cepas y dominancia de cepas europeas.

Ono et al, 2019

Examinaron tanto el ADN de *H.p.* como el ADNm del huésped y el ADN del cromosoma Y, obteniendo un total de 119 pacientes en República Dominicana, donde la demografía humana se compone de varios ancestros.



Las cepas de *H.p.* se dividieron en 2 poblaciones: 68 cepas hpAfrica1 y 51 cepas hpEurope

En el haplogrupo del cromosoma Y, el origen europeo fue dominante, mientras que el origen africano fue dominante tanto en la bacteria como en el haplogrupo del ADNm.

El tipo amerindio de haplogrupo de ADNm se observó en el 11,8% de los pacientes, sin embargo no se observó el tipo amerindio (hsp amerind) de *H.p.*

Cepas híbridas: hspWAfrica/hpEurope

Ancestría de *H.p* en Colombia

En Colombia también se han realizado múltiples estudios que evalúan la ancestría y el origen filogeográfico de la bacteria

Kodman, et al. 2013

Examinaron la asociación entre la gravedad de las lesiones gástricas y los patrones de variación genómica en muestras humanas y *H.p*

Los pacientes seleccionados de dos poblaciones colombianas geográficamente distintas con incidencias distintas de CG pero una prevalencia casi idéntica de infección por *H.p*

De la región costera de Tumaco se seleccionaron 122 muestras y de la región montañosa de Túquerres 120

Se observó que el grupo ancestral principal en las montañas es de origen Europe 2, el grupo más común en el sur de Europa y no de Asia oriental como se esperaría de una población humana derivada de Asia.

África 1 predominó en la costa y Europa 2 predominó en la región montañosa

Encontraron que las cepas de *H.p* se derivan de 4 poblaciones ancestrales: África 1 (AA1), Europa (AE1 Y AE2) y Asia oriental (AEA)

Matta, et al 2017

Buscaron comparar la variabilidad genómica y la colonización múltiple de *H.p* en pacientes con gastritis crónica de dos poblaciones colombianas con contraste en el riesgo de desarrollar CG

Túquerres

ZONA ALTO RIESGO

- 99% cagA+ vacA+
- Prevalencia de infección 86.4%



Tumaco

ZONA DE BAJO RIESGO

- 94% cagA+ y vacA+
- Prevalencia de infección 88.7%

Se encontró una diferencia en la tasa de incidencia de CG entre estas dos poblaciones, siendo 25 veces más alta en la población de Túquerres donde predomina la ancestría amerindia y europea, que en la población de Tumaco que tiene ancestría africana y se encuentra en la zona pacífica

Cáncer gástrico en Colombia

Colombia, quinto lugar en incidencia con un 7,3% y una mortalidad del 12%

Los departamentos con el mayor número de muertes por CG son Bogotá D.C, Antioquia, Valle del Cauca y Cundinamarca



Se observa una incidencia para los hombres de 9,6% ocupando el segundo lugar, mientras que en las mujeres ocupa el quinto lugar con una incidencia menor de 5,6%, mostrando que la incidencia es mayor en hombres que en mujeres



Guevara, et al. 2016

La interacción huésped – patógeno ha generado que en las zonas geográficas con mas diversidad genética como la colombiana halla mas prevalencia de CG, ya que encontramos poblaciones amerindias, europeas y africanas

En Colombia en la zona de alto riesgo prevalecen las cepas de *H.p* con genotipo **cagA/ vacA s1 m1**, presentando mayores alteraciones histopatológicas, comparada a la zona de bajo riesgo y teniendo en cuenta su origen europeo y africano respectivamente

En los departamentos de Bogotá y Nariño de Colombia se reportaron cepas de distintos orígenes geográficos (hpEuropa, hspAmerindia, hpAfrica1, hspWAfrica).

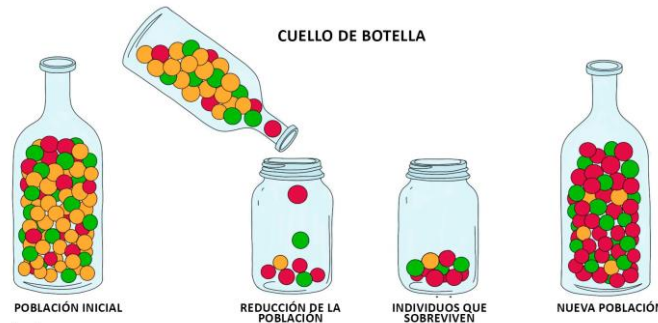
Thorell, et al. 2017

Realizaron estudios colombianos, comparando *H.p* en áreas de alto y bajo riesgo, vincularon el origen filogeográfico de las bacterias, como del humano, con un mayor riesgo de desarrollo de CG.



Para investigar si las cepas americanas de *H.p* se han diferenciado de las que se encuentran en el viejo mundo por mezcla, deriva genética o selección natural combinaron una gran cantidad de genomas de *H.p* secuenciados anteriormente, muestreados en América latina (México, Nicaragua, Colombia) Europa y Asia central

En los Estados Unidos, las cepas de origen africano y europeo se han mantenido genéticamente distintas, mientras que en Colombia y Nicaragua, los cuellos de botella y el intercambio genético desenfrenado entre los aislamientos han llevado a la formación de acervos genéticos nacionales.



Shiota, et al. 2014

Quisieron examinar los orígenes filogenéticos de cepas de pacientes con CG y UD que viven en Bogotá zona de alto riesgo., Colombia.

Se incluyeron 35 muestras con CG y 31 con UD

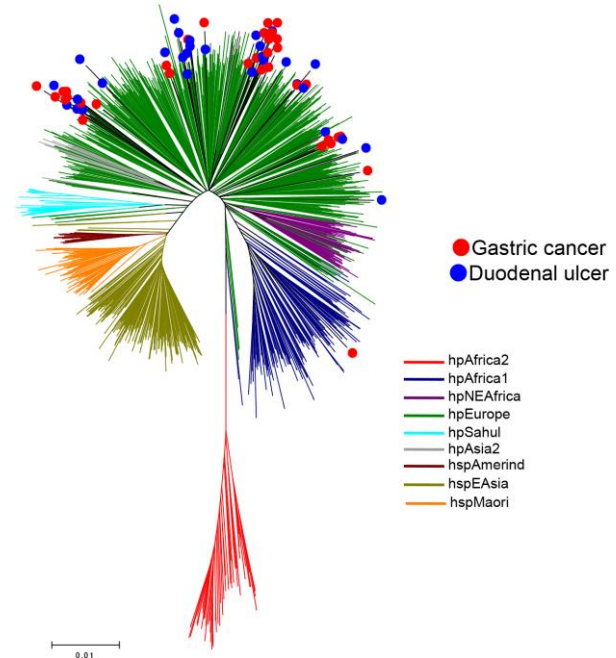
Los genotipos vacA y cagA y la genealogía de estas cepas colombinas fue analizada por MLST, la estructura de la población bacteriana se analizó utilizando el software STRUCTURE

Las cepas aisladas de pacientes con CG (35) incluyeron 24 CagA positivas y 11 CagA negativas

29 eran vacA s1m1

Todos los 24 CG cagA+ mostraron vacA genotipo s1m1

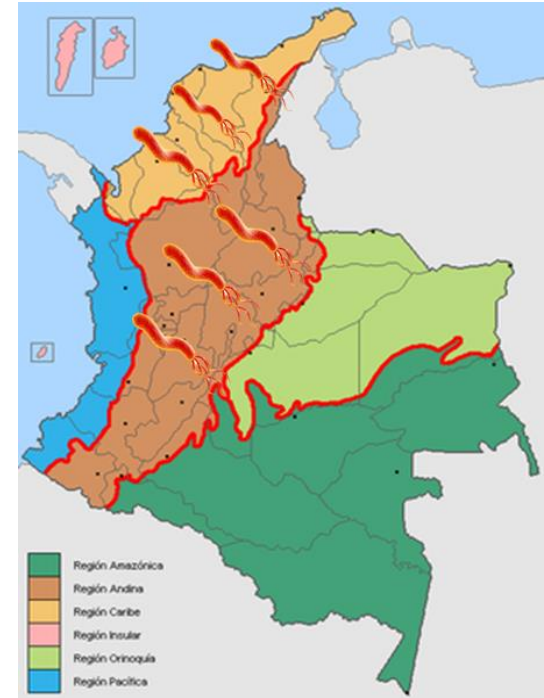
6 eran vacA s2m2



ENIGMA AFRICANO

En África, la prevalencia de la infección por *H.p.* es muy elevada, pero el CG es poco frecuente. Fenómeno que se conoce como “Enigma africano” y se observa en nuestro país, como se analizó en Túquerres (montañoso y alto riesgo) y Tumaco (costa y bajo riesgo) y estudios realizados en las ciudades de Bogotá y Tunja (montañoso y alto riesgo) frente a Barranquilla y Santa Martha (costa y bajo riesgo)

Finalmente se puede observar que la ancestría asiática y amerindia original de *Helicobacter pylori* desaparecieron dando origen a cepas hsEurope propias en la región montañosa y cepas hsAfrica1 en la zona de la costa



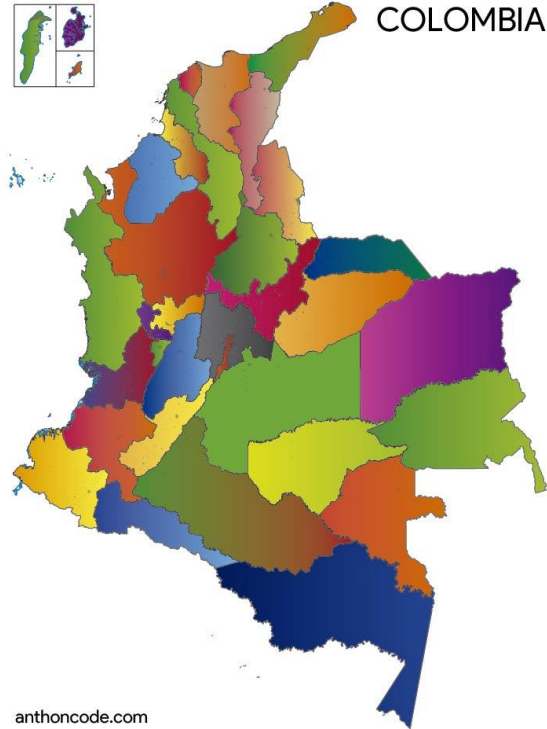
Conclusiones

Basadas en esta revisión podemos concluir que efectivamente se observa una relación entre la bacteria y el desarrollo de lesiones preneoplásicas y CG, dado que esta posee diversos factores de virulencia que intervienen en la cascada carcinogénica y que se han descrito a lo largo del tiempo en las investigaciones enfocadas en conocer este suceso, porque es de gran importancia a nivel global debido a que el CG es una de las principales causas de muerte en el mundo.

En este estudio se encontró que la ancestría de *H.p.* es de origen europeo y africano, también se pudo identificar que la bacteria y el ser humano presentan diversidad filogeográfica y está relacionada con el hecho de que las cepas europeas se asocian con mayor riesgo de desarrollar CG cuando las personas presentan ascendencia amerindia, por el contrario se ha demostrado que las cepas africanas se asocian con menor riesgo de desarrollar CG en personas con ascendencia africana.

Respecto a Colombia se observa que las poblaciones de *H.p.* están compuestas por hspWAfrica y hpEurope, esto demuestra la relación con el CG en algunas zonas del país, dado que se demostró su prevalencia en diferentes regiones geográficas, la zona andina presentó un mayor riesgo de CG debido a que su población tiene un alto porcentaje de ascendencia amerindia y está colonizada con cepas CagA+ que presentan una ascendencia europea y la región costera presenta menor riesgo de CG debido a que esta población tiene ascendía africana y a pesar de que sus cepas son virulentas por poseer CagA+ son de origen africano.

Recomendaciones



- Como se puede ver, el origen filogeográfico responde a que la ancestría de la *Helicobacter pylori* se asocia con el cáncer gástrico, pero para estar seguros de esta información es necesario realizar ensayos de histopatología para confirmar si cepas de origen europeo (región de alto riesgo) presenta más daño en el ADN e histológico que las cepas africanas (bajo riesgo)
- Es necesario ampliar los estudios en otras zonas del país con características de alto y bajo riesgo
- Para obtener una información más verídica es necesario trabajar con un tamaño de muestra mayor

Agradecimientos

Al terminar esta etapa le damos gracias a Dios por permitirnos alcanzar esta meta en nuestra vida, pese a las dificultades que se han presentado en el camino.

Le damos gracias a nuestros padres por acompañarnos en este proceso de formación profesional e integral.

También queremos agradecer a la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca y al Instituto Nacional de Cancerología y los docentes que intervinieron en nuestro proceso académico por la oportunidad que nos brindaron al permitirnos realizar nuestro proyecto de grado en pro de obtener nuestro título de Bacteriólogas y Laboratoristas Clínicas.

A la doctora Esperanza Trujillo quien con sus sabios consejos, paciencia, dedicación y entrega se convirtió en un modelo, una maestra que nos enseñó la importancia de hacer las cosas con dedicación, compromiso y responsabilidad, que además confió en nosotras y nos acompañó en este proceso que a pesar de los altibajos logramos alcanzar nuestros objetivos.

Y a cada una de las personas que nos han acompañado por estos cinco años y las personas aquí presentes en formarnos para ser profesionales de calidad.

Proyección

Debido a que el 85% de los casos con gastritis atrófica duodenal y el 25% de los casos mundiales de cáncer gástrico están asociados con *Helicobacter pylori*, es de vital importancia la implementación de nuevos mecanismos para la erradicación de *H.p* y la **implementación de una vacuna**, dado por las resistencia a los antibióticos que ha venido generando en *H.p*.

Gracias!