

## Ancestros de *Helicobacter pylori* de una zona de Nariño con alto riesgo de cáncer gástrico

### *Helicobacter pylori* ancestors from an area of Nariño with high risk of gastric cancer

Angi Paola Daza I.<sup>1\*</sup>, Rudy Viviana Gómez D.<sup>1</sup>, Diego Fernando Bastidas T.<sup>2</sup>,  
Lidia Madeline Montenegro C.<sup>2</sup>, Alvaro Jairo Pazos M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Biología, Universidad de Nariño, Ciudadela Universitaria Sede Torobajo, Pasto, Colombia

<sup>2</sup> Grupo Salud Pública, Universidad de Nariño, Ciudadela Universitaria Sede Torobajo, Pasto, Colombia

Recibido: Agosto 20 de 2023

Aceptado: Octubre 30 de 2023

\*Correspondencia del autor: Angi Paola Daza I

E-mail: angipaoladaza13@gmail.com

<https://doi.org/10.47499/revistaaccb.v1i35.284>

#### Resumen

**Objetivo:** Determinar la ancestría de *Helicobacter pylori* aislado de pacientes provenientes de una zona de alto riesgo de cáncer gástrico del departamento de Nariño. **Materiales y Métodos:** Se incluyeron 16 pacientes con síntomas de dispepsia e infectados con *Helicobacter pylori*. Se utilizaron biopsias gástricas para el cultivo de *Helicobacter pylori* y subsecuente secuenciación del genoma total por Illumina MiSeq, 2x300 pb. El ensamblaje y anotación de los genomas se procedió mediante el uso de los algoritmos SPAdes y RASTtk. Las proporciones ancestrales de *Helicobacter pylori* se determinaron por STRUCTURE con el modelo de mezcla. Las diferencias entre estas proporciones se establecieron con las pruebas H de Kruskal Wallis y post hoc. **Resultados:** La estructura de la población de *Helicobacter pylori* deriva de cuatro poblaciones ancestrales: Ancestral Europa (AE) (61.2%), Ancestral Africa1 (AA1) (35.7%), Ancestral Este de Asia (AEA) (3%) y Ancestral Africa2 (AA2) (0.1%), siendo significativas las diferencias entre las proporciones de los ancestros de *Helicobacter pylori* ( $p < 0.05$ ). Se identificaron diferencias estadísticamente significativas entre: AA2 y AEA ( $p = 0.022$ ); AA2 y AA1 ( $p < 0.05$ ); AA2 y AE ( $p < 0.05$ ); AEA y AA1 ( $p = 0.014$ ) y AEA con AE ( $p < 0.05$ ), sin embargo, no se encontró diferencias significativas entre AA1 y AE ( $p = 0.098$ ), evaluadas por post hoc. **Conclusión:** *Helicobacter pylori* que coloniza la mucosa gástrica de una población de alto riesgo de cáncer gástrico en Nariño, deriva su acervo genético principalmente de ancestros europeos y africanos, confiriéndole a la bacteria alta capacidad competitiva asociada al desarrollo de lesiones severas en nichos gástricos amerindios.

**Palabras clave:** Acervo genético, Biopsias gástricas, Evolución, Estructura de población, Genoma, lesiones gástricas (DeCS/MESH).

## Abstract

**Objective:** To determine the ancestry of *Helicobacter pylori* isolated from patients from a high-risk area for gastric cancer in the department of Nariño. **Materials and Methods:** Sixteen patients with dyspepsia symptoms and infected with *Helicobacter pylori* were included. Gastric biopsies were used for *Helicobacter pylori* culture and subsequent whole genome sequencing by Illumina MiSeq, 2x300 bp. Genome assembly and annotation proceeded by using the SPAdes and RASTtk algorithms. The ancestral proportions of *Helicobacter pylori* were determined by STRUCTURE with the mixture model. Differences between these proportions were established with Kruskal Wallis and post hoc H-tests. **Results:** The population structure of *Helicobacter pylori* derived from four ancestral populations: Ancestral Europe (AE) (61.2%), Ancestral Africa1 (AA1) (35.7%), Ancestral East Asia (AEA) (3%) and Ancestral Africa2 (AA2) (0.1%), with differences between the proportions of *Helicobacter pylori* ancestors being significant ( $p < 0.05$ ). Statistically significant differences were identified between: AA2 and AEA ( $p = 0.022$ ); AA2 and AA1 ( $p < 0.05$ ); AA2 and AE ( $p < 0.05$ ); AEA and AA1 ( $p = 0.014$ ) and AEA with AE ( $p < 0.05$ ), however, no significant differences were found between AA1 and AE ( $p = 0.098$ ), evaluated by post hoc. **Conclusion:** *Helicobacter pylori* colonizing the gastric mucosa of a population at high risk of gastric cancer in Nariño, derives its gene pool mainly from European and African ancestors, giving the bacterium highly competitive capacity associated with the development of severe lesions in Amerindian gastric niches.

**Keywords:** Gene pool, Gastric biopsies, Evolution, Population structure, Genome, Gastric lesions (DeCS/MESH).

## Introducción

Estudios de ancestría permitieron vincular a *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) como uno de los microorganismos más prehistóricos del microbioma humano, el cual se estima infecta el epitelio gástrico hace aproximadamente 88.000 a 116.000 años y su acervo genético deriva de poblaciones ancestrales que surgieron en África (1,2). Este patógeno coevoluciona junto con el humano moderno desde su migración fuera de África hace ~60.000 años, planteando la teoría que los patógenos infecciosos con transmisión vertical modulan su virulencia con el tiempo, mientras que la interrupción de procesos coevolutivos por transferencia horizontal de genes puede provocar una mayor virulencia que conduce a manifestaciones clínicas severas en poblaciones que han sufrido procesos interrupción de la coevolución huésped-patógeno como Colombia, donde la población es mayoritariamente mestiza (3–6).

Las cepas de *H. pylori* forman grupos y subgrupos filogenéticos en diferentes áreas geográficas, reflejando la migración de poblaciones humanas y el origen de diversas poblaciones étnicas (7). Por esto se plantea que el establecimiento de los humanos modernos infectados con *H. pylori* en Asia se dio hace unos 45.000 a 60.000 años, con una rápida expansión costera a través de la India hasta el sudeste asiático (8). Se formaron rutas de

migración humana por Nueva Guinea y Australia que se extendieron a través de Melanesia y posteriormente a Polinesia; el asentamiento de los humanos modernos fue acompañado por dos poblaciones diferentes del patógeno denominadas hpSahul y hpMaori respectivamente (8,9).

El continente europeo fue colonizado hace 40.000 años a través de dos rutas: por Turquía a lo largo del corredor del Danubio hasta Europa del Este, y a lo largo de la costa mediterránea. Finalmente, el Continente Americano fue colonizado por migraciones de poblaciones asiáticas a través del Estrecho de Bering que comenzó hace ~12.000 años (10,11). Un evento de migración reciente (500 años) permitió la colonización de las Américas por inmigrantes españoles y esclavos africanos que expusieron a la población a nuevas cepas infectantes de *H. pylori* (12). Las separaciones geográficas de los diferentes asentamientos humanos infectados por *H. pylori* permitieron la formación de poblaciones de *H. pylori* genéticamente distintas en diferentes regiones denominadas hpEurope, hpNEAfrica, hpAfrica1, hpAfrica2, hpAsia2, hpSahul y hpEastAsia; hpEastAsia se divide en tres subpoblaciones, hspEAsia, hspMaori y hspAmerindian. Estas derivan de 6 poblaciones ancestrales: ancestral Europa1 (AE1), ancestral Europa2 (AE2), ancestral Este Asia (EAE), ancestral África1 (AA1), an-

cestral África2 (AA2) y ancestral Sahul (3,13). Estudios con cepas de *H. pylori* aisladas de Colombia documentaron que las bacterias son de ancestría principalmente hpEurope (europeas) y en menor proporción hpAfrica (africanas) al igual que en otras regiones de América Latina (14).

*H. pylori* exhibe una marcada diversidad y muestra patrones étnicos y filogeográficos específicos que están estrechamente vinculados con los de sus anfitriones humanos. Esta correlación conlleva a procesos de adaptación en genes particulares de la bacteria que desempeñan un papel crucial en la regulación de la respuesta inmunológica del hospedador (2,7). Investigaciones previas han permitido establecer una asociación entre las poblaciones de origen filogeográfico europeo y la presencia de lesiones gástricas más graves. Además, estas poblaciones se consideran más competitivas, llegando a desplazar a otras cepas de diferentes orígenes evolutivos. Se ha observado también que cuando la ascendencia de *H. pylori* no es compatible con la del hospedador, esto conlleva a una relación perjudicial que aumenta el riesgo que desarrolle lesiones precursoras de cáncer gástrico (CG) (6). Bajo este contexto, el objetivo de este estudio fue determinar la ancestría de *H. pylori* aislada de pacientes provenientes de una zona de alto riesgo de cáncer gástrico del departamento de Nariño.

### Materiales y métodos

El estudio se desarrolló en el municipio de La Florida Nariño-Colombia, ubicado en la cordillera de los Andes al noroccidente del departamento de Nariño, con una población aproximada de 9.000 habitantes (Para el año 2018) (15). De acuerdo con lo reportado por Correa y col. (1976), esta área presenta una incidencia aproximada de 40/100.000 habitantes, cifras que catalogan a esta población con alto riesgo de desarrollar CG (16).

**Aislamiento *Helicobacter pylori*.** Biopsias gástricas se colocaron en un eppendorf de 1.5 mL estéril, se agregaron 200 µL de solución salina 0.89% de NaCl y se maceraron hasta homogeneizar con un rotor y microbolillo estéril. El macerado se sembró con asa de argolla calibrada a 10 µL, en agar Columbia con sangre desfibrinada de cordero al 10%, más suplemento Dent. Luego de la siembra se preservó en una solución de tioglicolato con glicerol al 20% y se conservó en freezer a -70°C, las cajas se llevaron a una incubadora de CO<sub>2</sub> a 37°C realizando evaluaciones periódicas de crecimiento de 7 a 10 días.

Para la obtención de cultivos axénicos se realizó transferencia por repiques de colonias compatibles morfológicamente con *H. pylori* a cajas Petri con agar Columbia más sangre desfibrinada de cordero al 10% y suplemento Isovitalax. Este proceso fue necesario para la obtención de cultivos puros de *H. pylori*.

**Extracción y secuenciación ADN de *Helicobacter pylori*.** La extracción de ADN de *H. pylori* se realizó con el kit comercial de Extracción de ADN genómico "QIAamp DNA Mini Kit", siguiendo el protocolo del catálogo 51306 y protocolo de extracción de ADN bacteriano descrito por el fabricante. Las 16 muestras de ADN extraído a partir de preservados bacterianos fueron enviadas a LGC Genomics en Berlín-Alemania. La secuenciación del genoma completo se realizó mediante la plataforma MiSeq™ System-Illumina (2 x 300 pb 5M pares de lectura) con una cobertura aproximada de 40X.

**Análisis de Secuencias de Genoma Completo de *Helicobacter pylori*.** El control de calidad de los datos de la secuenciación del genoma completo de *H. pylori* fueron verificados utilizando el software FastQC v0.12. Se llevó a cabo una limpieza utilizando los programas Trim Galore v0.6.6 y Cutadapt v4.3. Estas herramientas fueron utilizadas para eliminar adaptadores y realizar correcciones necesarias. A partir de las lecturas preprocesadas se realizó el ensamblaje de los 16 genomas de *H. pylori* con el algoritmo SPAdes del servidor en línea PATRIC (<https://www.patricbrc.org/>). Los contigs definitivos fueron anotados utilizando el algoritmo RASTtk.

**Caracterización de la Ascendencia de *Helicobacter pylori*.** Se llevó a cabo un análisis de tipificación mediante el método MLST (Tipificación de secuencias multilocus) utilizando siete genes *housekeeping* de *H. pylori* (*atpA*, *efp*, *trpC*, *ppa*, *mutY*, *yphC*, *ureI*). El objetivo fue determinar las proporciones de ascendencia genética de los aislados obtenidos de individuos del Municipio de La Florida en Nariño. Para llevar a cabo este análisis, se utilizaron como referencia 821 secuencias previamente recopiladas de la base de datos PubMLST, las cuales abarcan diversas poblaciones y subpoblaciones de *H. pylori* y han sido utilizadas en estudios anteriores para determinar su ascendencia genética.

Las secuencias bajo estudio fueron alineadas con secuencias de referencia utilizando MUSCLE, resultando en un conjunto de datos de 837 aislados. Las propor-

ciones de ascendencia genética se estimaron mediante el modelo de mezcla (*Admixture*) de STRUCTURE. Este modelo se ejecutó con una fase de quemado de 20.000 iteraciones, seguida de 30.000 iteraciones para cada muestra con diferentes valores de *K* clúster. Se exploraron de 3 a 8 poblaciones tentativas, realizando 5 ejecuciones para cada valor de *K*. Para visualizar la estructura poblacional, se generaron gráficos utilizando CLUMPP v.1.1.2, basándose en métodos establecidos en investigaciones anteriores (17-19).

**Plan de análisis estadístico.** Se empleó la prueba de Shapiro-Wilk con el objetivo de evaluar si los datos en cuestión presentaban una distribución normal. Sin embargo, tras aplicar la prueba, se observó que los datos no cumplían con los criterios de normalidad establecidos. Por lo tanto, se utilizaron pruebas estadísticas no paramétricas en el análisis, lo que permitió obtener resultados válidos y confiables en presencia de distribuciones no gaussianas.

Se aplicó la prueba *H* de Kruskal-Wallis para evaluar si había diferencias significativas entre las proporciones de ancestros de *H. pylori*. Posteriormente, se realizó una prueba *post hoc* para identificar y cuantificar las diferencias significativas entre grupos específicos en las proporciones de ancestros. Este enfoque no paramétrico permitió realizar un análisis estadístico válido, a pesar de la ausencia de normalidad en los datos.

**Aspectos éticos.** El proyecto se ampara en la resolución N° 008430 de 1993, por la cual se establecen las normas científicas, técnicas y administrativas para la investigación en salud; considerando los aspectos éticos en la investigación con seres humanos, con la aplicación de un consentimiento informado a la población de estudio. En cuanto a los participantes del desarrollo de la inves-

tigación fueron informados previamente de la finalidad, los riesgos y beneficios de la elaboración del proyecto para el cual se colectaron las muestras (biopsias gástricas y muestras de sangre), teniendo en cuenta que su participación fue voluntaria y que los resultados fueron y serán confidenciales y serán utilizados con el único fin de desarrollar investigaciones como la aquí planteada.

## Resultados

De los 16 participantes incluidos en esta investigación provenientes de La Florida-Nariño, el 18.8% fueron hombres y el 81.2% fueron mujeres, el rango de edad de los pacientes estuvo entre los 30-68 años con una media de 51 años. Los resultados histopatológicos de las muestras se resumieron a dos diagnósticos: 11 pacientes presentaron gastritis crónica no atrófica (GCNA) y 5 gastritis crónica atrófica con metaplasia intestinal (gcam). El examen histopatológico indicó que, de las 16 muestras el 31.2% no están asociadas a la presencia de *H. pylori*, mientras que 68.8% si lo están. Los resultados de cultivo de *H. pylori* realizados en el Laboratorio de Microbiología Molecular de la Universidad de Nariño, indicaron que el 100% de estas muestras fueron positivas para *H. pylori*, presentado crecimiento característico propio de esta bacteria (Tabla 1).

Los cultivos de los 16 muestras bacterianas fueron positivos con crecimiento abundante en agar Columbia, evidenciando que las características macro y microscópicas fueron compatibles con las reportadas para este microorganismo (20,21). Todas, las muestras fueron positivas para las pruebas bioquímicas y moleculares, detección del gen *ureA* que permitieron identificar las bacterias objeto de estudio como *H. pylori* (Tabla 2).

**Tabla 1.** Datos clínico-demográficos de pacientes participantes de esta investigación

Aislado	Sexo	Edad	Diagnóstico histopatológico		Cultivo
			Lesión gástrica	<i>Helicobacter pylori</i>	<i>Helicobacter pylori</i>
AP002	Femenino	52	GCAMI	Negativo	Positivo
AP015	Masculino	50	GCAMI	Positivo	Positivo
AP018	Femenino	47	GCAMI	Positivo	Positivo
AP021	Femenino	50	GCAMI	Negativo	Positivo
AP022	Femenino	60	GCNA	Negativo	Positivo
AP025	Femenino	65	GCNA	Positivo	Positivo
AP028	Femenino	54	GCNA	Positivo	Positivo
AP029	Femenino	48	GCAMI	Positivo	Positivo
AP031	Femenino	52	GCNA	Positivo	Positivo
CR004	Masculino	68	GCNA	Positivo	Positivo
CR005	Femenino	54	GCNA	Positivo	Positivo
CR031	Femenino	50	GCNA	Positivo	Positivo
CR045	Masculino	34	GCNA	Positivo	Positivo
CR047	Femenino	62	GCNA	Negativo	Positivo
CR048	Femenino	48	GCNA	Positivo	Positivo
CR054	Femenino	30	GCNA	Negativo	Positivo

GCNA: Gastritis crónica no atrófica y GCAMI: Gastritis crónica atrófica con metaplasia intestinal

**Tabla 2.** Identificación morfológica, microscópica y bioquímica de *Helicobacter pylori*

Aislado	Observación macroscópica	Resultados Pruebas bioquímicas			
		Prueba Ureasa	Prueba Oxidasa	Prueba Catalasa	Tinción de Gram
AP002	Colonias pequeñas, translúcidas, a manera de gotas de rocío	+	+	+	Bacilos Gram negativos
AP015	Colonias pequeñas, translúcidas, a manera de gotas de rocío	+	+	+	Bacilos Gram negativos
AP018	Colonias pequeñas, translúcidas, a manera de gotas de rocío	+	+	+	Bacilos Gram negativos
AP021	Colonias pequeñas, translúcidas, a manera de gotas de rocío	+	+	+	Bacilos Gram negativos
AP022	Colonias pequeñas, translúcidas, a manera de gotas de rocío	+	+	+	Bacilos Gram negativos
AP025	Colonias pequeñas, translúcidas, a manera de gotas de rocío	+	+	+	Bacilos Gram negativos
AP028	Colonias pequeñas, translúcidas, a manera de gotas de rocío	+	+	+	Bacilos Gram negativos
AP029	Colonias pequeñas, translúcidas, a manera de gotas de rocío	+	+	+	Bacilos Gram negativos
AP031	Colonias pequeñas, translúcidas, a manera de gotas de rocío	+	+	+	Bacilos Gram negativos
CR004	Colonias pequeñas, translúcidas, a manera de gotas de rocío	+	+	+	Bacilos Gram negativos
CR005	Colonias pequeñas, translúcidas, a manera de gotas de rocío	+	+	+	Bacilos Gram negativos
CR031	Colonias pequeñas, translúcidas, a manera de gotas de rocío	+	+	+	Bacilos Gram negativos
CR045	Colonias pequeñas, translúcidas, a manera de gotas de rocío	+	+	+	Bacilos Gram negativos
CR047	Colonias pequeñas, translúcidas, a manera de gotas de rocío	+	+	+	Bacilos Gram negativos
CR048	Colonias pequeñas, translúcidas, a manera de gotas de rocío	+	+	+	Bacilos Gram negativos
CR054	Colonias pequeñas, translúcidas, a manera de gotas de rocío	+	+	+	Bacilos Gram negativos

+: Positivo para pruebas bioquímicas

En la Tabla 3, se presentan los resultados de la calidad y cantidad del ADN extraído a partir de criopreservados de *H. pylori* aislada de pacientes provenientes de La Florida-Nariño.

**Tabla 3.** Cuantificación de ADN por espectrofotometría en NanoDrop-2000

Preservados	Concentración ng/ul	A260/A280	A260/A230
AP002	21.4	1.89	1.79
AP015	12.0	1.86	1.84
AP018	15.5	2.00	1.72
AP021	18.8	1.85	1.88
AP022	22.5	2.00	1.94
AP025	19.7	2.00	1.95
AP028	27.8	1.94	1.85
AP029	11.0	1.99	1.97
AP031	16.9	1.86	1.98
CR004	24.0	1.93	1.83
CR005	26.9	1.82	1.87
CR031	10.8	1.99	1.93
CR045	14.1	1.81	1.20
CR047	39.1	1.85	1.77
CR048	35.4	1.94	1.95
CR-054	15.1	1.88	1.84

El ADN extraído a partir de los preservados bacterianos de *H. pylori* corresponden a moléculas de ADN, la pureza de ADN obtenido se observa en los valores de absorbancia entre 1.6 a 2 dentro del rango de absorbancia 260/280, la pureza del material genético se evaluó en el rango de absorbancia 260/230, cuyos valores oscilaron entre 1.8 a 2.2 como lo describen Desjardins & Conklin (2010); los valores están dentro del rango de pureza, indicando que las muestras de ADN extraídas no contenían contaminantes de proteínas o fenoles derivados de la extracción (22).

El análisis bioinformático de las secuencias de *H. pylori* permitió determinar que los 16 aislados tuvieron en promedio 115 contigs, genomas con tamaños comprendidos desde 1.595.752 pb hasta 1.700.565 pb, con una media de 1.663.692 pb  $\pm$  7365.295; el análisis mostró un contenido medio de G/C del 39.1%  $\pm$  0.05, con un mínimo de 38.8% y un máximo de 39.5%. El promedio de genes de *H. pylori* fue de 1.108  $\pm$  12 y varió desde 1.052 hasta 1.209 (Tabla 4).

**Tabla 4.** Características de secuenciación y análisis de genomas completos de *Helicobacter pylori* aislado de pacientes provenientes de La Florida-Nariño

Aislado	Tamaño pb	Número de Contigs	N50	G/C %	Genes anotados	Longitud máxima	Longitud mínima
AP002	1.668.722	157	31.913	39.22	1.149	109.261	10.629
AP015	1.689.940	185	47.025	39.23	1.175	195.414	9.135
AP018	1.700.565	143	36.365	39.21	1.140	132.405	11.893
AP021	1.680.516	167	63.185	39.22	1.159	176.724	10.063
AP022	1.638.615	52	107.077	38.86	1.052	309.303	31.512
AP025	1.652.684	66	60.512	38.95	1.057	251.461	25.041
AP028	1.673.711	167	38.220	39.20	1.153	107.504	10.023
AP029	1.613.189	294	10.422	39.50	1.209	32.597	5.488
AP031	1.653.928	46	87.648	38.95	1.032	204.924	35.955
CR004	1.680.991	90	73.150	39.09	1.089	197.352	18.678
CR005	1.649.918	80	50.390	38.92	1.076	112.627	20.624
CR031	1.653.356	58	63.377	39.07	1.076	204.311	28.507
CR045	1.687.749	127	69.457	39.52	1.093	136845	13.220
CR047	1.686.534	75	58.084	38.85	1.085	233.272	22.488
CR048	1.692.916	73	65.233	38.90	1.087	183.975	23.191
CR054	1.595.752	74	48.931	39.24	1.057	79.272	21.565

Pb: pares de bases, N50: medida de calidad de ensamblaje, %G/C: contenido de guanina y citosina



El análisis de la ascendencia de *H. pylori* con  $k = 4$  maximiza la probabilidad del modelo, generando una mayor coherencia en los grupos asignados a los 837 aislados analizados, revelando una notable diversidad genética, que refleja la influencia de cuatro poblaciones ancestrales en los 16 aislados provenientes de La Florida-Nariño: Europa (AE), África (AA1 y AA2) y Asia oriental (AEA). La Figura 1 muestra que los aislados de la población estudiada presentan una mayor proporción de ascendencia AE (61.2%), seguida de la ascendencia AA1 (35.7%), AEA (3%) y en menor proporción la ascendencia AA2 (0.1%). La mayoría de los aislados de *H. pylori* presentan proporciones sustanciales de ascendencia AE y AA1, sin embargo, en los aislados AP022, AP025,

CR054 predomina la ascendencia AE (99.2%) (Figura 1).

Las estimaciones de ascendencia de las cuatro poblaciones en los 16 aislados de La Florida-Nariño no mostraron una distribución normal. Al realizar la prueba no paramétrica H de Kruskal-Wallis, se encontraron diferencias significativas entre las proporciones de los ancestros de *H. pylori* ( $p=0.000$ ), se aplicó una prueba post hoc de Dunn de Kruskal-Wallis que reveló que existían diferencias estadísticamente significativas en 5 grupos: Ascendencia AA2 y AEA ( $p=0.022$ ), AA2 y AA1 ( $p<0.05$ ), AA2 y AE ( $p<0.05$ ), AEA y AA1 ( $p=0,014$ ), AEA con AE ( $p<0,05$ ), sin embargo, no se presentaron diferencias significativas entre AA1 y AE ( $p=0.098$ ).

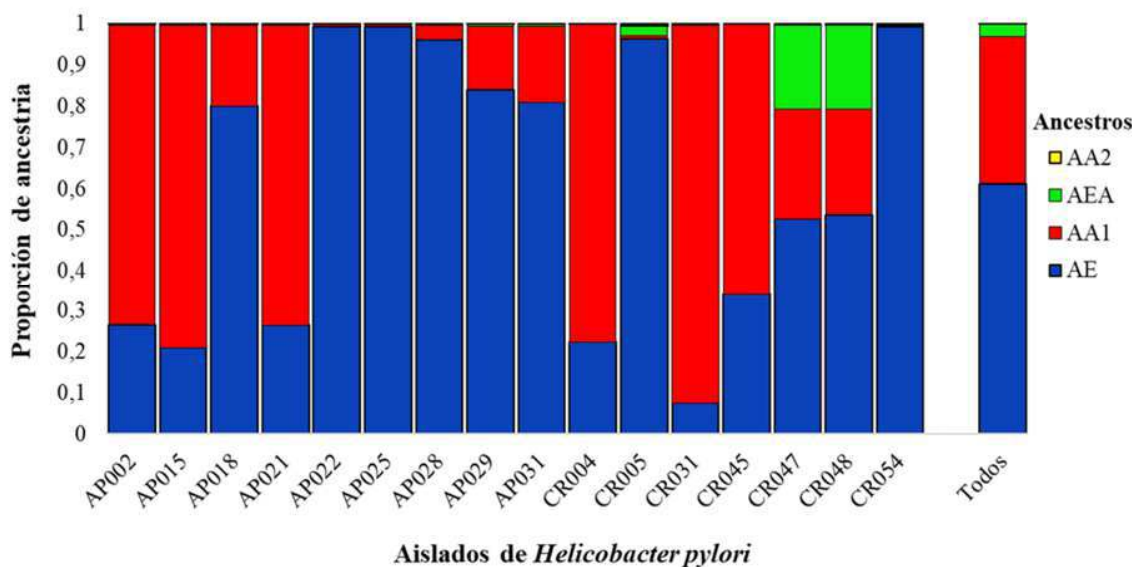


Figura 1. Distribución de ascendencia de *Helicobacter pylori* aislado de pacientes de La Florida-Nariño

Nota. Cada aislado de *Helicobacter pylori* está representado por una barra vertical de color, donde el azul representa ancestral europea (AE), el rojo representa ancestral africana 1 (AA1), el verde representa ancestral Asia oriental (AEA) y el amarillo representa ancestral africana 2 (AA2). Se destaca una mayor proporción de ascendencia de los aislados, AE (61.2%), seguido de AA1 (35.7%). Fuente: Este estudio.

## Discusión

El CG se desarrolla a raíz de transformaciones graduales en la mucosa gástrica, derivadas de un proceso inflamatorio crónico originado por la infección de *H. pylori*, adquirida en la infancia (5,23). En el contexto de esta investigación, se constató que los 16 participantes exhibieron alguna forma de lesión gástrica: 68.75% presentaron Gastritis Crónica No Atrófica (GCNA) y 31.25% Gastritis Crónica Atrófica con Metaplasia Intestinal (GCAMI), ambas vinculadas a la infección causada por la bacteria, confirmada mediante diagnóstico molecular y cultivo (Tabla 1). Estos hallazgos concuerdan con los datos previamente reportados para la región andina del departamento de Nariño. En un estudio anterior, Bedo-

ya Urresta y col. (2012) señalan que la gastritis es la manifestación más prevalente en esta área y reportan que, dentro de una muestra de 212 pacientes, el 24.4% presenta metaplasia intestinal (24). Es relevante resaltar que los distintos diagnósticos histopatológicos guardan relación con la presencia de la bacteria, sugiriendo que *H. pylori* es una de las condiciones fundamentales para desencadenar el inicio de la cascada precursora del cáncer gástrico (5,25).

Nuestros hallazgos reflejan que la franja de edad de los pacientes abarcó de 30 a 68 años, con una predominancia del 81.2% de participantes de género femenino. Se observó que de los cinco casos diagnosticados con

GCAMI, cuatro correspondían a individuos del sexo femenino (Tabla 1). Estos resultados son similares con los presentados por Sotomayor Luzuriaga (2020), quien informa que, de un grupo de 342 sujetos, el 60.5% eran mujeres. Además, menciona que la metaplasia intestinal es más prevalente entre mujeres mayores de 50 años (26). No obstante, es importante notar que nuestros hallazgos contrastan con las cifras reportadas por IARC (2020), Sung et al. (28) y Torres et al. (29), donde la tendencia es a que las lesiones precancerosas sean más frecuentes en hombres, y el riesgo de desarrollar neoplasias es dos veces mayor en ellos que en mujeres. Estas divergencias en los resultados entre las poblaciones pueden deberse al hecho de que el desarrollo de lesiones precursoras de CG puede variar entre países e incluso dentro de las mismas naciones, y esto podría influir según las diferencias étnicas presentes en las poblaciones (27-29).

Los análisis genéticos revelan una notable variabilidad en los genomas de este patógeno. Alm y col (30), realizaron una comparación genómica entre las cepas 26695 y J99, encontrando que la cepa J99 era 24,036 pb más corta en comparación con la cepa 26695, aunque ambas mantenían un contenido de G/C similar del 39% (30). En este estudio, se determinó que las secuencias completas del genoma de *H. pylori* presentan un tamaño promedio de 1.6 megabases (Mb), con un rango que oscila entre 1.5 Mb y 1.7 Mb, y un contenido medio de G/C del 39% (Tabla 4). Estos resultados concuerdan con los hallazgos reportados por Takahashi y col, quienes indican que el genoma de *H. pylori* aislado de un paciente japonés tiene una dimensión de 1,5 Mb (con un contenido de G/C del 39%) (31). Además, Guevara y col. (2020), reportaron que tres genomas de *H. pylori* aislados de una población colombiana (Tolima) presentan un tamaño promedio de 1,6 Mb (G/C 39%) (32).

La variación en el número de pb en el genoma de *H. pylori* se relaciona con que los genomas de este patógeno son diversos entre cepas de diferentes regiones geográficas, en áreas de una misma zona geográfica e incluso en cepas que infectan a un mismo individuo, se cree que la diversidad genómica de la bacteria le ayuda en la adaptación a diferentes nichos gástricos, contribuyendo a la supervivencia de ésta en diversas poblaciones humanas (33,34).

La elevada diversidad genética entre las cepas de *H. pylori* permite reconstruir sus fuentes ancestrales tras siglos de coexistencia en lugares geográficos concretos

(3). En este estudio se determinó que la estructura poblacional de los 16 aislados de *H. pylori* está influenciada por cuatro ancestros; la mayor proporción de ascendencia corresponde a cepas de ascendencia AE (61.2%), seguido de la ascendencia AA1 (35.7%) y en menor proporción ascendencia EAE y AA2 (3 y 0.1% respectivamente) (Figura 1). Estos resultados son similares a los reportados por Kodaman y col. (2014), quienes mencionan que las cepas colombianas están constituidas principalmente por ancestros africanos (AA1), europeos (AE1 y AE2) y de ascendencia asiática (AEA); en la región montañosa del departamento de Nariño encontraron que las proporciones de ascendencia de *H. pylori* están representadas principalmente por ancestros europeos seguido de ancestros africanos (AA1 ~20%) (6). Estos resultados pueden ser atribuidos a la alta tasa de recombinación y mutación que experimenta *H. pylori*, así como a la transferencia horizontal de genes que ocurre entre distintas cepas provenientes de diversas regiones geográficas. Específicamente, la colonización del continente americano por parte de los europeos marcó un punto crucial en la historia de la bacteria. La presencia de la ascendencia AA1 en la población estudiada podría ser explicada por la migración de españoles, quienes trajeron consigo cepas de la ascendencia AA1, adquiridas previamente de esclavos africanos tras la conquista del continente en el siglo XV. Esta dinámica de migración y mezcla genética entre diferentes grupos poblacionales ha sido documentada en investigaciones anteriores (1,3,35).

El análisis de ascendencia realizado en este estudio reveló tres casos particulares en los cuales la ascendencia europea predominó en más del 99%, mientras que en dos casos la proporción de ascendencia asiática alcanzó el 20%, en contraste con los otros aislados en los que la presencia de esta ascendencia era inferior al 1% (Figura 1). Esta observación concuerda con lo expuesto por de Sablet y col. (2011), quienes señalan que la región andina de Colombia experimentó una colonización principalmente por cepas de origen europeo (hpEurope), argumentando que estas últimas poseen una ventaja competitiva sobre las cepas autóctonas derivadas de poblaciones asiáticas (hspAmerindian) (14). Además, Domínguez-Bello y colaboradores (2008) indican que las cepas hspAmerindian carecen de las adaptaciones necesarias para desenvolverse eficazmente en los variados nichos gástricos presentes en poblaciones mestizas (36).



## Conclusión

El análisis genético de *Helicobacter pylori* aislado de pacientes de La Florida-Nariño, mostró que este patógeno hace parte de una reciente línea evolutiva denominada hspColombia. El acervo genético de los 16 aislados deriva principalmente de ancestros europeos (61.2%) y africanos (35.8%), confiriendo a la bacteria alta capacidad competitiva y adaptativa en los diferentes nichos gástricos.

## Agradecimientos

Agradecimientos a la Universidad de Nariño y al Grupo

de Investigación Salud Pública de esta institución por proporcionar las herramientas esenciales para llevar a cabo esta investigación con éxito.

## Conflicto de interés y financiaron

Los autores de esta investigación manifiestan no tener ningún conflicto de intereses.

Esta investigación fue financiada por Universidad de Nariño, el programa de estancias posdoctorales de la Gobernación de Nariño y la Fundación Ceiba.

## Referencias

1. Guevara A, Criollo A, Suarez J, Bohórquez M, Echeverry M. Coevolución genética Homo sapiens-*Helicobacter pylori* y sus implicaciones en el desarrollo del cáncer gástrico: una revisión sistemática. *Rev Colomb Gastroenterol.* 2016;31(4):376-90. <https://doi.org/10.22516/25007440.113>
2. Moodley Y, Linz B, Bond RP, Nieuwoudt M, Soodyall H, Schlebusch CM, et al. Age of the Association between *Helicobacter pylori* and Man. *PLoS Pathog.* 2012;8(5): e1002693. doi: 10.1371/journal.ppat.1002693
3. Falush D, Wirth T, Linz B, Pritchard JK, Stephens M, Kidd M, et al. Traces of human migrations in *Helicobacter pylori* populations. *Science.* 2003;299(5612):1582-1585. doi:10.1126/science.1080857
4. Linz B, Balloux F, Moodley Y, Manica A, Liu H, Roumagnac P, et al. An African origin for the intimate association between humans and *Helicobacter pylori*. *Nature.* 2007; 445(7130):915-8. <https://doi.org/10.1038/nature05562>
5. Correa P, Piazuelo MB. The gastric precancerous cascade. *J Dig Dis.* 2012;13(1):2-9. doi:10.1111/j.1751-2980.2011.00550.x
6. Kodaman N, Pazos A, Schneider BG, al. et. Human and *Helicobacter pylori* coevolution shapes the risk of gastric disease. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2014;111(4):1455-60. doi:10.1073/pnas.1318093111
7. Yamaoka. *Helicobacter pylori* typing as a tool for tracking human migration. *Clin Microbiol Infect.* 2009;15(9):829-34. doi:10.1111/j.1469-0691.2009.02967.x
8. Moodley Y, Linz B, Yamaoka Y, Windsor HM, Breurec S, Wu JY, et al. The peopling of the Pacific from a bacterial perspective. *Science.* 2009;323(5913):527-30. doi:10.1126/science.1166083
9. Pope KO, Terrell JE. Environmental setting of human migrations in the circum-Pacific region. *J Biogeogr* 2008;35(1):1-21. doi/full/10.1111/j.1365-2699.2007.01797.x
10. Kersulyte D, Kalia A, Gilman RH, Mendez M, Herrera P, Cabrera L, et al. *Helicobacter pylori* from Peruvian Amerindians: Traces of human migrations in strains from remote Amazon, and genome sequence of an Amerind strain. *PLoS One.* 2010;5(11): e15076. Published 2010 Nov 29. doi:10.1371/journal.pone.0015076
11. Moodley Y, Brunelli A, Ghirotto S, Klyubin A, Maady AS, Tyne W, et al. *Helicobacter pylori* historical journey through Siberia and the Americas. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2021;118(25):e2015523118. doi:10.1073/pnas.2015523118
12. Gutiérrez-Escobar AJ, Méndez-Callejas G, Acevedo O, Bravo MM. Rapid evolution of the *Helicobacter pylori* AlpA adhesin in a high gastric cancer risk region from Colombia. *PeerJ.* 2018;6:e4846. Published 2018 May 25. doi:10.7717/peerj.4846
13. Breurec S, Guillard B, Hem S, Brisse S, Dieye FB, Huerre M, et al. Evolutionary history of *Helicobacter pylori* sequences reflect past human migrations in southeast Asia. *PLoS One.* 2011;6(7):e22058. doi:10.1371/journal.pone.0022058
14. de Sablet T de, Piazuelo MB, Shaffer CL, Schneider BG, Asim M, Chaturvedi R, et al. Phylogeographic origin of *Helicobacter pylori* is a determinant of gastric cancer risk. *Gut.* 2011;60(9):1189-1195. doi:10.1136/gut.2010.234468

15. DANE G. Geoportal. 2018 [cited 2021 Oct 5]. Geovisor de Servicios Web Geográficos. Available from: <https://geoportal.dane.gov.co/geovisores/territorio/servicios-web-geograficos/?cod=196>
16. Correa P, Cuello C, Duque E, et al. Gastric cancer in Colombia. III. Natural history of precursor lesions. *J Natl Cancer Inst.* 1976;57(5):1027-1035. doi:10.1093/jnci/57.5.1027
17. Guzman K, Montenegro L, Pazos A. The *Helicobacter pylori* genome evolution in different gastric cancer risk Colombian populations. Research Square; 2021. DOI: 10.21203/rs.3.rs-960798/v1.
18. Oleastro M, Rocha R, Vale FF. Population genetic structure of *Helicobacter pylori* strains from Portuguese-speaking countries. *Helicobacter.* 2017;22(4):10.1111/hel.12382. doi:10.1111/hel.12382
19. Shiota S, Suzuki R, Matsuo Y, Miftahussurur M, Tran TTH, Binh TT, et al. *Helicobacter pylori* from Gastric Cancer and Duodenal Ulcer Show Same Phylogeographic Origin in the Andean Region in Colombia. *PLoS One.* 2014;9(8): e105392. doi:10.1371/journal.pone.0105392
20. Blanchard TG, Nedrud JG. Laboratory Maintenance of *Helicobacter* Species. *Curr Protoc Microbiol.* 2012; Chapter 8: Unit8B.1. doi:10.1002/9780471729259.mc08b01s24
21. Pazos A, Ceron F, Bravo L. Manual de genotipificación de *Helicobacter pylori*. Laboratorio de Microbiología y Biología Molecular, Universidad de Nariño. 2011
22. Desjardins P, Conklin D. NanoDrop Microvolume Quantitation of Nucleic Acids. *J Vis Exp.* 2010;(45):2565. doi:10.3791/2565
23. Correa. Cáncer gástrico: una enfermedad infecciosa. *Rev Colomb Cir* 2011, 26, 111-117.
24. Bedoya Urresta A, Sansón G. F, Yépez Fuertes V. Y, Santacruz M. C, Cifuentes C. Y, Calvache P. D, et al. Prevalencia y severidad de las lesiones precursoras de malignidad en un área de alto riesgo de cáncer gástrico. *Rev Colomb Gastroenterol.* 2012;27(4): 275-81.
25. Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet.* 1984;1(8390):1311-1315. doi:10.1016/s0140-6736(84)91816-6
26. Luzuriaga, S., Alfredo, N. Frecuencia de lesiones precursoras de cáncer de estómago en pacientes mayores de veinte años que fueron atendidos en el Hospital General San Francisco de Quito durante el período enero-diciembre del año 2018. Pontificia Universidad Católica del Ecuador; 2020. <http://repositorio.puce.edu.ec:80/handle/22000/19587>
27. IARC. Cancer Today: Estimated number of new cases in 2020, stomach, both sexes, all ages. 2020.
28. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin.* 2021;71(3):209-249. doi:10.3322/caac.21660.
29. Torres J, Correa P, Ferreccio C, Hernandez-Suarez G, Herrero R, Cavazza-Porro M, et al. Gastric cancer incidence and mortality is associated with altitude in the mountainous regions of Pacific Latin America. *Cancer Causes Control.* 2013;24(2):249-256. doi:10.1007/s10552-012-0114-8
30. Alm RA, Ling LSL, Moir DT, King BL, Brown ED, Doig PC, et al. Genomic-sequence comparison of two unrelated isolates of the human gastric pathogen *Helicobacter pylori*. *Nature.* 1999;397(6715):176-180. doi:10.1038/16495
31. Takahashi M, Matsumoto Y, Ujihara T, Maeda H, Hanazaki K, Nagasaki K, et al. Complete Genome Sequence of *Helicobacter pylori* Strain 3401, a Suitable Host for Bacteriophages KHP30 and KHP40. *Microbiol Resour Announc.* 2021;10(42): e0064721. doi:10.1128/MRA.00647-21
32. Guevara, Torres RC, Suárez JJ, Castro-Valencia FL, Parra Giovanna, Torres Javier, et al. Genome Sequences of Three Colombian *Helicobacter pylori* Strains Isolated from Tolimense Patients. *Microbiol Resour Announc.* 2020;9(18):e00117-20. doi:10.1128/MRA.00117-20
33. Draper JL, Hansen LM, Bernick DL, Abedrabbo S, Underwood JG, Kong N, et al. Fallacy of the Unique Genome: Sequence Diversity within Single *Helicobacter pylori* Strains. *mBio.* 2017;8(1):e02321-16. Published 2017 Feb 21. doi:10.1128/mBio.02321-16
34. Gutiérrez-Escobar AJ, Trujillo E, Acevedo O, Bravo MM. Phylogenomics of Colombian *Helicobacter pylori* isolates. *Gut Pathog.* 2017; 9:52. doi:10.1186/s13099-017-0201-1
35. Linz B, Windsor HM, Gajewski JP, Hake CM, Drautz DI, Schuster SC, et al. *Helicobacter pylori* Genomic Microevolution during Naturally Occurring Transmission between Adults. *PLoS One.* 2013;8(12): e82187. doi:10.1371/journal.pone.0082187
36. Domínguez-Bello MG, Pérez ME, Bortolini MC, Salzano FM, Pericchi LR, Zambrano-Guzmán O, et al. Amerindian *Helicobacter pylori* Strains Go Extinct, as European Strains Expand Their Host Range. *PLoS One.* 2008;3(10): e3307. doi:10.1371/journal.pone.0003307