



# MEMORIA

25.º RETORNO SOCIAL DE LA INVESTIGACIÓN  
CÁNCER

## **ANÁLISIS DE PATRONES DE LA MICROBIOTA ASOCIADOS AL CÁNCER DE PÁNCREAS Y ESTUDIO DE SU PAPEL EN LA INFLAMACIÓN DEL HUÉSPED, EL ESTRÉS OXIDATIVO Y EL ESTADO INMUNITARIO**

**Dr. Eric Jeffrey Duell**

IDIBELL Institut d'Investigació Biomèdica de Bellvitge

**Dr. Xavier Aldeguer Manté**

IDIBGI Institut d'Investigació Biomèdica de Girona

## 1. Resumen

El objetivo de este proyecto es analizar los patrones de microbiota relacionados con el cáncer de páncreas para arrojar luz sobre su posible papel en la inflamación del huésped, el estrés oxidativo y el estado inmunitario. De hecho, los microbiomas oral e intestinal pueden influir en el riesgo y la progresión del cáncer a través de la inflamación sistémica. Se han descrito bacterias presentes en el páncreas, pero no se conoce bien su papel en la inflamación local (pancreatitis crónica, PC), las lesiones precursoras y benignas (por ejemplo, NIPM y otros quistes) y la progresión del adenocarcinoma ductal pancreático (ADP). Las pruebas obtenidas en modelos animales sugieren que las bacterias pancreáticas endógenas (BPE) promueven la progresión del ADP mediante la inducción de inmunosupresión y el aumento de la resistencia al fármaco quimioterapéutico gemcitabina. Se desconoce el papel de las BPE en los resultados y el pronóstico de los pacientes con APD.

Se reclutaron pacientes en ambos centros (ICO-HUB-IDIBELL e IDIBGI). Se recogieron datos clínicos de pacientes con cáncer de páncreas y controles de un programa de donación de hígado. Se crearon 2 bases de datos con los datos clínicos: una base de datos REDCap y una base de datos más limitada para el seguimiento del subproyecto. Se extrajeron muestras de tejido pancreático fresco resecado de pacientes con ADP y controles. También se recolectaron muestras adicionales fijadas en formol e incluidas en parafina (FFPE) de supervivientes a corto plazo (STS) y a largo plazo (LTS) para aumentar el tamaño de la muestra.

Debido a diversas razones (véase la sección siguiente), la interpretación de los resultados aún está en curso y actualmente solo disponemos de datos preliminares. Los perfiles de ADN metagenómicos de los microbiomas se caracterizaron mediante la secuenciación del gen bacteriano ARNr 16S para descubrir genomas bacterianos y virales. Los taxones bacterianos y la abundancia relativa se compararon entre los diferentes compartimentos del microbioma y se relacionarán con el estado inflamatorio/inmunitario del huésped y, por último, con los resultados pronósticos de los pacientes con ADP.

## 2. Resultados

En primer lugar, nos gustaría destacar que la pandemia de la covid-19 ralentizó drásticamente el reclutamiento de sujetos y la recogida de muestras durante los 2 primeros años del proyecto. Además, el proceso de análisis de las muestras para la secuenciación del ARN se ha prolongado durante varios meses, y los resultados actuales, que se describen a continuación, son todavía preliminares.

### **Base de datos clínicos y de covariables REDCap**

El personal autorizado para el estudio (es decir, clínicos, documentalistas) recuperó información limitada proporcionada por los participantes en el estudio sobre el estilo de vida (por ejemplo, hábito de fumar y consumo de alcohol en el año anterior), información demográfica relevante y antecedentes familiares de cáncer, y se extrajeron datos clínicos relevantes para construir una base de datos anonimizada. Se creó una base de datos REDCap que incluía los datos clínicos de 129 pacientes con cáncer de páncreas y 32 controles de un programa de donación de hígado. Los datos incluían variables como: identificador de la muestra, consentimiento firmado escaneado, motivo de no participación, número de historia clínica, nombre, apellidos, sexo, etnia, hábito tabáquico reciente e ingesta de alcohol, fecha de nacimiento, fecha de defunción y causa de defunción —si había fallecido—, fecha de diagnóstico, estadio de la enfermedad, extensión de la resección, uso y tipo de antibióticos, uso y dosis de inhibidores de la bomba de protones, consumo de fármacos, número de biopsias, grado tumoral y número y tipo de muestra. Se ha creado una segunda base de datos más limitada para el seguimiento de subproyectos teniendo en cuenta solo las siguientes variables: identificador de la muestra, diagnóstico, sexo, rango de edad, muestra de heces, muestra de sangre, muestra de saliva, muestra de tejido y estado vital.

### **Análisis ARNr 16S en muestras frescas**

Los datos de 87 pacientes ( $n = 55$  pacientes con cáncer de páncreas y 32 controles) se enviaron para un enfoque basado en marcadores utilizando el ARNr 16S para estudiar la diversidad bacteriana de 127 muestras de tejido fresco congelado. Este análisis permitió describir y cuantificar la diversidad microbiana alfa y beta, así como estudiar los perfiles taxonómicos desde el nivel de filo hasta el de especie.

La interpretación exhaustiva de los resultados aún está en curso.

### **Análisis ARNr 16S en muestras FFPE**

Los datos de 78 pacientes con cáncer de páncreas también se analizaron con ARNr 16S. En total se analizaron 78 muestras.

En cuanto a los datos del análisis con muestras frescas, la interpretación exhaustiva de los resultados aún está en curso.

### **Secuenciación del ARN**

Solicitamos financiación externa para analizar los datos de la secuenciación del ARN y estudiar la asociación con el metagenoma (datos del ARNr 16S).

Se analizaron los datos de 89 pacientes ( $n = 57$  pacientes pancreáticos y  $n = 32$  controles). El análisis preliminar mostró una muy buena calidad de las muestras y destacó las diferencias entre las muestras normales y las tumorales.

El análisis exhaustivo y la interpretación de los resultados aún están en curso.

### **Análisis de bioinformática y análisis estadístico de riesgos, resultados y supervivencia**

Hemos caracterizado la diversidad bacteriana (índice de diversidad H de Shannon) y clasificado su abundancia y taxonomía en todas las muestras de tejido pancreático. Además, hemos llevado a cabo algoritmos de búsqueda de secuencias de virus animales conocidos en las lecturas de secuencias *shotgun*.

Se realizaron análisis estadísticos de los microbiomas mediante modelos de regresión beta para examinar los determinantes demográficos (por ejemplo, la edad, el sexo y el índice de masa corporal) y clínicos (por ejemplo, el uso perioperatorio de antibióticos, el uso de endoprótesis antes de la cirugía, la terapia neoadyuvante) de la abundancia y la taxonomía del microbioma. También hemos podido trazar la diversidad bacteriana dentro y a través de los tipos de muestras pancreáticas, así como comparaciones estadísticas multivariantes de microbiomas (abundancia y taxonomía) entre tipos de muestras. El análisis estadístico multivariante de la abundancia y taxonomía bacterianas (incluidos los taxones con genes *CDDL* y *NupC+* o variantes metabolizadoras de gemcitabina) en función de variables pronósticas en pacientes con ADP y los análisis de supervivencia (Kaplan-Meier y regresión de Cox) siguen en curso.

### **3. Relevancia y posibles implicaciones futuras**

El trabajo proporcionará a la comunidad científica y clínica nuevos hallazgos que podrán traducirse en nuevas prácticas clínicas, herramientas de diagnóstico precoz o incluso una definición más ambiciosa de los microorganismos con comportamiento probiótico en el tejido pancreático.

A largo plazo, este proyecto podría proporcionar información sobre el microbioma pancreático y los biomarcadores de la respuesta del huésped al microbioma en pacientes con PDA. Esta información, en combinación con otros descubrimientos significativos en el campo de los biomarcadores de detección precoz del cáncer, podría hacer avanzar el campo hacia la identificación del cáncer de páncreas en sus fases más tempranas, cuando el tumor aún puede researse.

Los resultados finales se podrían traducir, entre otras cosas, en el desarrollo de nuevas herramientas no invasivas para la detección precoz del cáncer de páncreas en individuos de alto riesgo. Esto proporcionaría a los clínicos herramientas y estrategias para reducir la mortalidad del PDA y, en caso de un efecto putativo del eje microbioma/inflamación en el desarrollo del cáncer de páncreas, abrir una nueva vía para buscar tratamientos que modulen el microbioma para prevenirlo. Sin embargo, esta herramienta puede necesitar una mayor validación en una cohorte más amplia. Podría implementarse en el sistema nacional de salud como herramienta de detección precoz del cáncer de páncreas.

### **4. Bibliografía científica generada**

Lamentablemente, dado que aún estamos con los resultados preliminares del proyecto, hasta la fecha no hemos podido generar bibliografía científica.