



MEMÒRIA

25è RETORN SOCIAL DE LA RECERCA
CÀNCER

ANÀLISI DE PATRONS DE LA MICROBIOTA ASSOCIATS AL CÀNCER DE PÀNCREES I ESTUDI DEL SEU PAPER EN LA INFLAMACIÓ DE L'HOSTE, L'ESTRÈS OXIDATIU I L'ESTAT IMMUNITARI

Dr. Eric Jeffrey Duell

IDIBELL Institut d'Investigació Biomèdica de Bellvitge

Dr. Xavier Aldeguer Manté

IDIBGI Institut d'Investigació Biomèdica de Girona

1. Resum

L'objectiu d'aquest projecte era analitzar els patrons de microbiota relacionats amb el càncer de pàncrees per aclarir el seu possible paper en la inflamació de l'hoste, l'estrès oxidatiu i l'estat immunitari. De fet, els microbiomes oral i intestinal poden influir en el risc i la progressió del càncer a través de la inflamació sistèmica. S'han descrit bacteris en el pàncrees, però no se sap bé quin paper tenen en la inflamació local (pancreatitis crònica, PC), les lesions precursors i benignes (per exemple, NIPM i altres quistos) i la progressió de l'adenocarcinoma ductal pancreàtic (ADP). Les proves obtingudes en models animals suggereixen que els bacteris pancreàtics endògens (BPE) promouen la progressió de l'ADP mitjançant la inducció d'immunosupressió i l'augment de la resistència al fàrmac quimioterapèutic gemcitabina. Es desconeix el paper dels BPE en els resultats i el pronòstic dels pacients amb APD.

Es van reclutar pacients en tots dos centres (ICO-HUB-IDIBELL i IDIBGI). Es van recollir dades clíniques de pacients amb càncer de pàncrees i controls d'un programa de donació de fetge. Es van crear 2 bases de dades amb les dades clíniques: una base de dades REDCap i una base de dades més limitada per al seguiment del subprojecte. Es van recollir mostres de teixit pancreàtic fresc resecat de pacients amb ADP i controls. També es van recollir mostres addicionals fixades en formol i incloses en parafina (FFPE) de supervivents a curt termini (STS) i a llarg termini (LTS) per augmentar el nombre de mostres.

A causa de diverses raons (vegeu la secció següent), la interpretació dels resultats encara està en curs i actualment només disposem de dades preliminars. Els perfils de DNA metagenòmics dels microbiomes es van caracteritzar mitjançant la seqüenciació del gen bacterià 16S rRNA per descobrir genomes bacterians i virals. Els tàxons bacterians i l'abundància relativa es van comparar entre els diferents compartiments del microbioma i es relacionaran amb l'estat inflamatori/immunitari de l'hoste i, finalment, amb els resultats pronòstics dels pacients amb ADP.

2. Resultats

En primer lloc, ens agradaria destacar que la pandèmia de la covid-19 va alentir dràsticament el reclutament de subjectes i la recollida de mostres durant els 2 primers anys del projecte. A més, el procés d'anàlisi de les mostres per a la seqüenciació de l'RNA s'ha prolongat durant diversos mesos, i els resultats actuals, que es descriuen a continuació, són encara preliminars.

Base de dades clíniques i de covariants REDCap

El personal autoritzat per a l'estudi (és a dir, clínics, documentalistes) va recuperar informació limitada proporcionada pels participants en l'estudi sobre l'estil de vida (per exemple, hàbit de fumar i consum d'alcohol l'any anterior), informació demogràfica rellevant i antecedents familiars de càncer, i es van extreure dades clíniques rellevants per construir una base de dades anonimitzada. Es va crear una base de dades REDCap que incloïa les dades clíniques de 129 pacients amb càncer de pàncrees i 32 controls d'un programa de donació de fetge. Les dades incloïen variables com: identificador de la mostra, consentiment signat escanejat, motiu de no participació, número d'història clínica, nom, cognoms, sexe, ètnia, hàbit tabàquic recent i ingesta d'alcohol, data de naixement, data de defunció i causa de defunció —si havia mort—, data del diagnòstic, estadi de la malaltia, extensió de la resecció, ús i tipus d'antibiòtics, ús i dosi d'inhibidors de la bomba de protons, consum de fàrmacs, nombre de biòpsies, grau tumoral i número i tipus de mostra. S'ha creat una segona base de dades més limitada per al seguiment de subprojectes tenint en compte només les dades següents: identificador de la mostra, diagnòstic, sexe, rang d'edat, mostra de femta, mostra de sang, mostra de saliva, mostra de teixit i estat vital.

Anàlisi de 16S rRNA en mostres fresques

Les dades de 87 pacients ($n = 55$ pacients amb càncer de pàncrees i 32 controls) es van enviar per a un enfocament basat en marcadors utilitzant el 16S rRNA per estudiar la diversitat bacteriana de 127 mostres de teixit fresc congelat. Aquesta anàlisi va permetre descriure i quantificar la diversitat microbiana alfa i beta, així com estudiar els perfils taxonòmics des del nivell de fílum fins al d'espècie.

La interpretació exhaustiva dels resultats encara està en curs.

Anàlisi de 16S rRNA en mostres FFPE

Les dades de 78 pacients amb càncer de pàncrees també es van analitzar amb 16S rRNA. En total es van analitzar 78 mostres.

Igual que en el cas de les dades obtingudes de l'anàlisi amb mostres fresques, la interpretació exhaustiva dels resultats encara està en curs.

Seqüenciació de l'RNA

Vam sol·licitar finançament extern per analitzar les dades de la seqüenciació de l'RNA (RNA-Seq) i estudiar-ne l'associació amb el metagenoma (dades de 16S rRNA).

Es van analitzar les dades de 89 pacients ($n = 57$ pacients amb càncer de pàncrees i $n = 32$ controls). L'anàlisi preliminar va mostrar una molt bona qualitat de les mostres i va destacar les diferències entre les mostres normals i les tumorals.

L'anàlisi exhaustiva i la interpretació dels resultats encara estan en curs.

Anàlisi bioinformàtica i anàlisi estadística de riscos, resultats i supervivència

Hem caracteritzat la diversitat bacteriana (índex de diversitat H de Shannon) i n'hem classificat l'abundància i taxonomia en totes les mostres de teixit pancreàtic. A més, hem dut a terme algorismes de cerca de seqüències de virus animals coneguts en les lectures de seqüències *shotgun*.

Es van fer anàlisis estadístiques dels microbiomes mitjançant models de regressió beta per examinar els determinants demogràfics (per exemple, l'edat, el sexe i l'índex de massa corporal) i clínics (per exemple, l'ús perioperatori d'antibiòtics, l'ús d'endopròtesi abans de la cirurgia, teràpia neoadjuvant) de l'abundància i la taxonomia del microbioma. També hem pogut traçar la diversitat bacteriana dins dels tipus de mostres pancreàtiques i a través seu, així com hem fet comparacions estadístiques multivariants de microbiomes (abundància i taxonomia) entre tipus de mostres. L'anàlisi estadística multivariant de l'abundància i la taxonomia bacterianes (inclosos els tàxons amb gens *CDDL* i *NupC+* o variants metabolitzadors de gemcitabina) en funció de variables pronòstiques en pacients amb ADP i les anàlisis de supervivència (Kaplan-Meier i regressió de Cox) segueixen en curs.

3. Rellevància i possibles implicacions futures

El treball proporcionarà a la comunitat científica i clínica noves troballes que es podran traduir en noves pràctiques clíniques, eines de diagnòstic precoç o fins i tot en una definició més ambiciosa dels microorganismes amb comportament probiòtic en el teixit pancreàtic.

A llarg termini, aquest projecte podria proporcionar informació sobre el microbioma pancreàtic i els biomarcadors de la resposta de l'hoste al microbioma en pacients amb ADP. Aquesta informació, en combinació amb altres descobriments significatius en el camp dels biomarcadors de detecció precoç del càncer, podria fer avançar el camp cap a la identificació del càncer de pàncrees en les seves fases més primerenques, quan el tumor encara es pot reseçar.

Finalment, els resultats es podrien traduir, entre altres coses, en el desenvolupament de noves eines no invasives per a la detecció precoç del càncer de pàncrees en individus d'alt risc. Això proporcionaria als clínics eines i estratègies per reduir la mortalitat de l'ADP i, en cas d'un efecte putatiu de l'eix microbioma/inflamació en el desenvolupament del càncer de pàncrees, permetria obrir una nova via per buscar tractaments que modulin el microbioma per prevenir-lo. No obstant això, és possible que calgui validar aquesta eina en una cohort més àmplia. Es podria implementar en el sistema nacional de salut com a eina de detecció precoç del càncer de pàncrees.

4. Bibliografia científica generada

Malauradament, atesos els resultats preliminars del projecte, encara no hem pogut generar cap bibliografia científica.