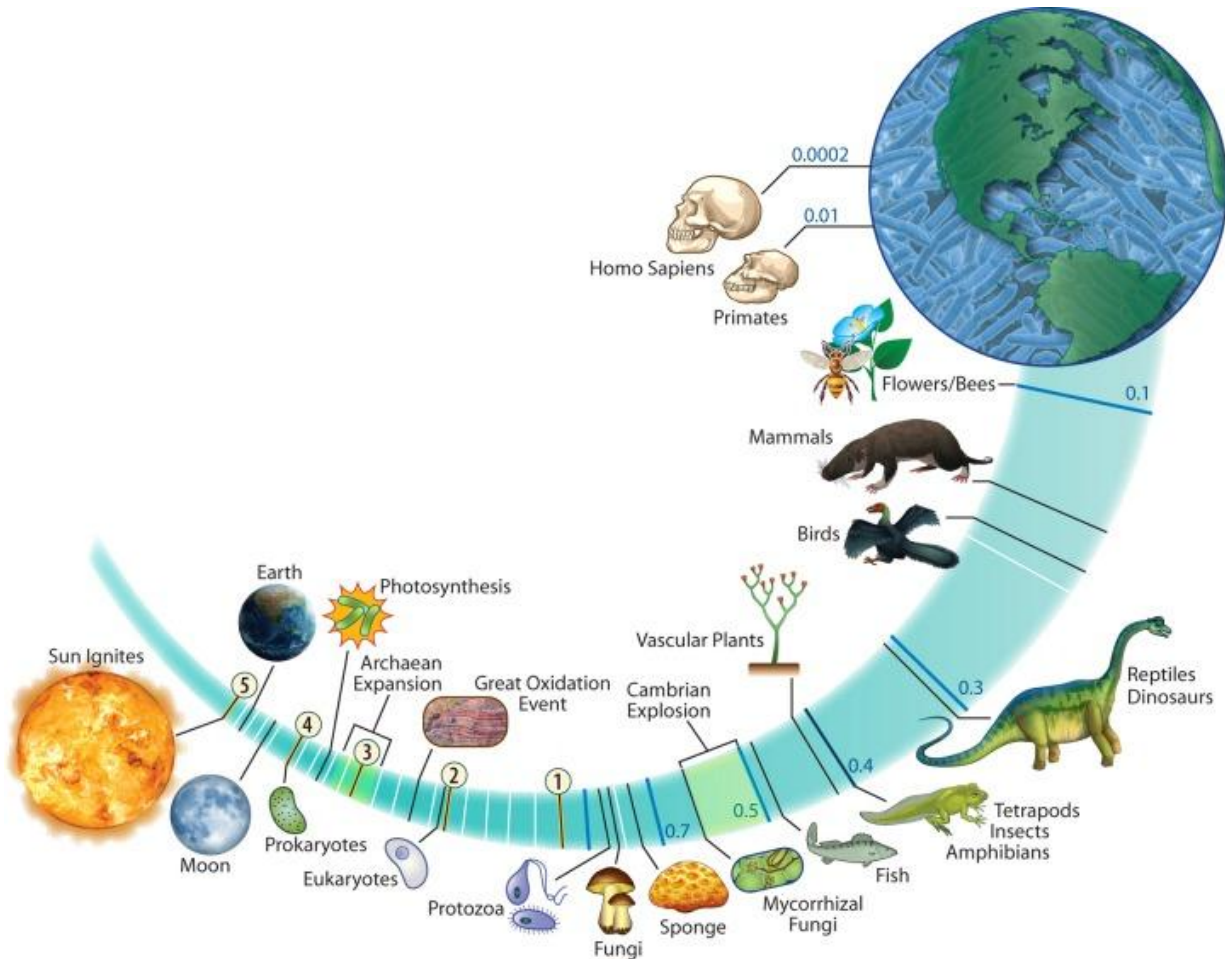


Biología Molecular Aplicada al Diagnóstico Médico
Círculo Médico de Rosario

Microbioma humano

Dra. Mariela Sciara
Laboratorio Cibic

Evolución y Microbioma



Microbioma Humano



Joshua Lederberg, Premio Nobel de Fisiología en 1958 asignó el término **microbioma** para nombrar la “comunidad ecológica de microorganismos comensales, simbióticos y patógenos que literalmente comparten nuestro espacio corporal y han sido totalmente ignorados como determinantes de la salud y la enfermedad.”

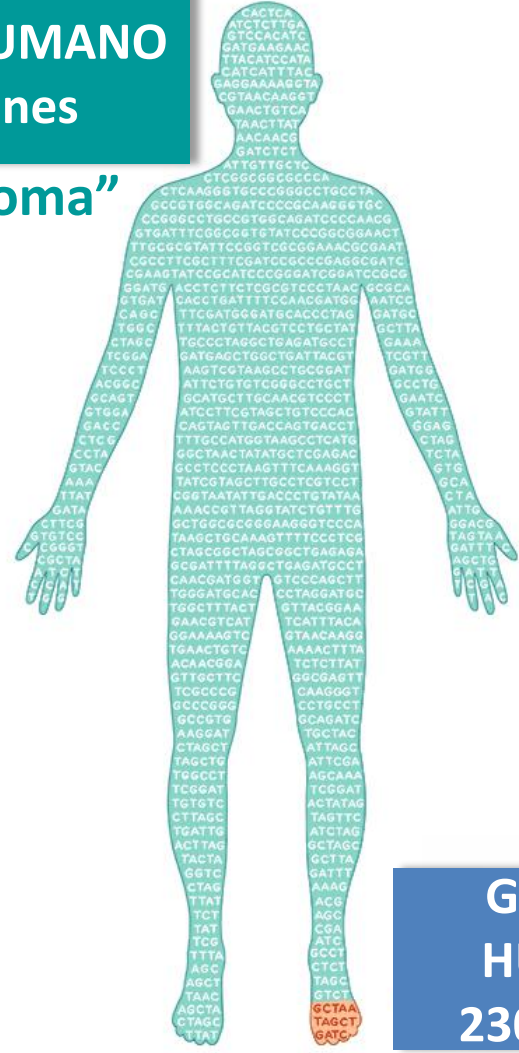
Microbioma Humano

CELULAS MICROBIANAS



MICROBIOMA HUMANO
+1000000 genes

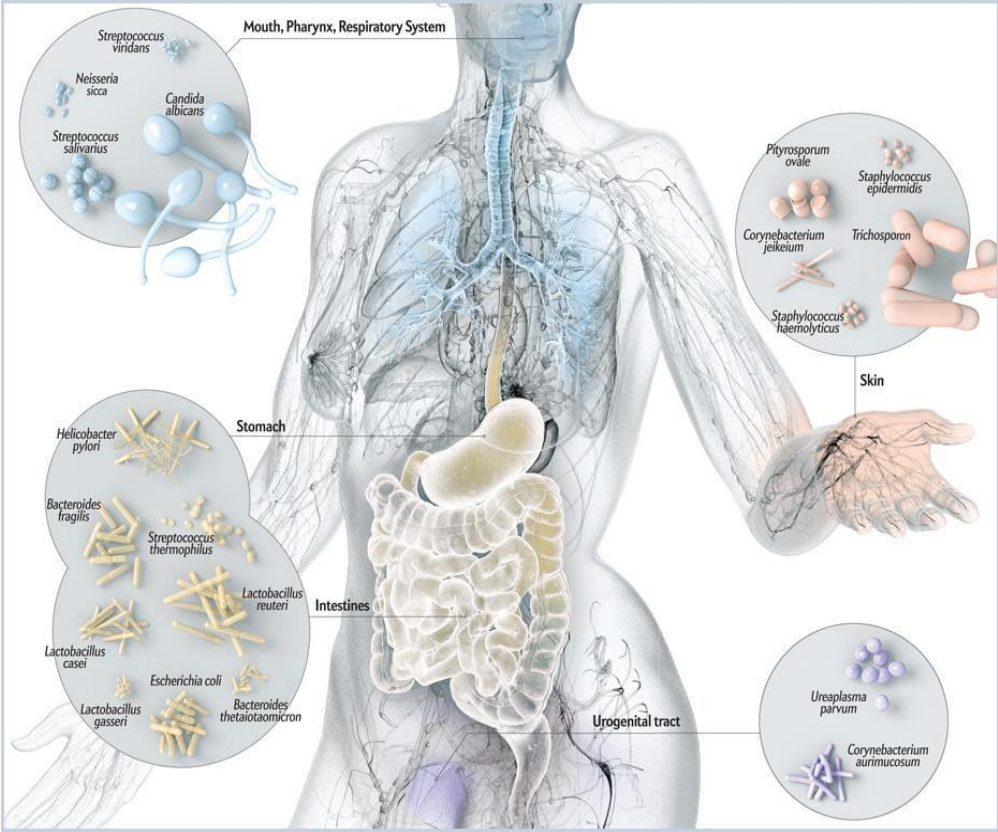
“segundo genoma”



CELULAS HUMANAS

GENOMA HUMANO
23000 genes

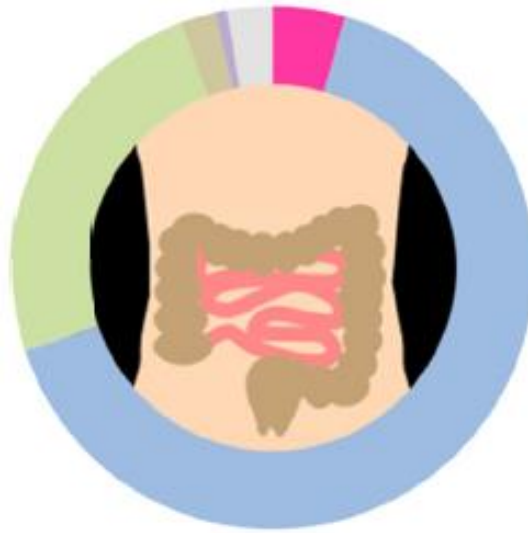
Microbioma Humano: distintos sitios, distintas funciones



Microbioma Humano



Microbioma intestinal



- Proteobacteria**
- Bacteroidetes**
- Firmicutes**
- Actinobacteria**
- Verrucomicrobia**
- Others**

$$E=mc^2$$

Obtención de energía del alimento

RETINOL
FOLATE
RIBOFLAVIN
BIOTIN
NIACIN

Producción de vitaminas esenciales



Modulación del sistema inmune

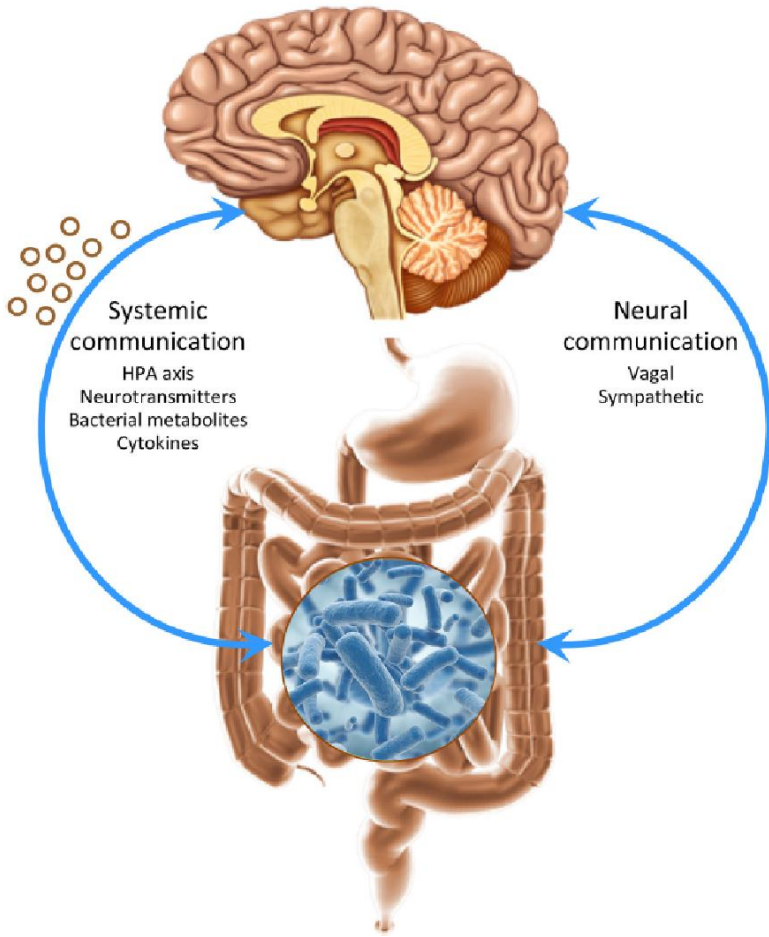


Regulación de niveles de glucosa

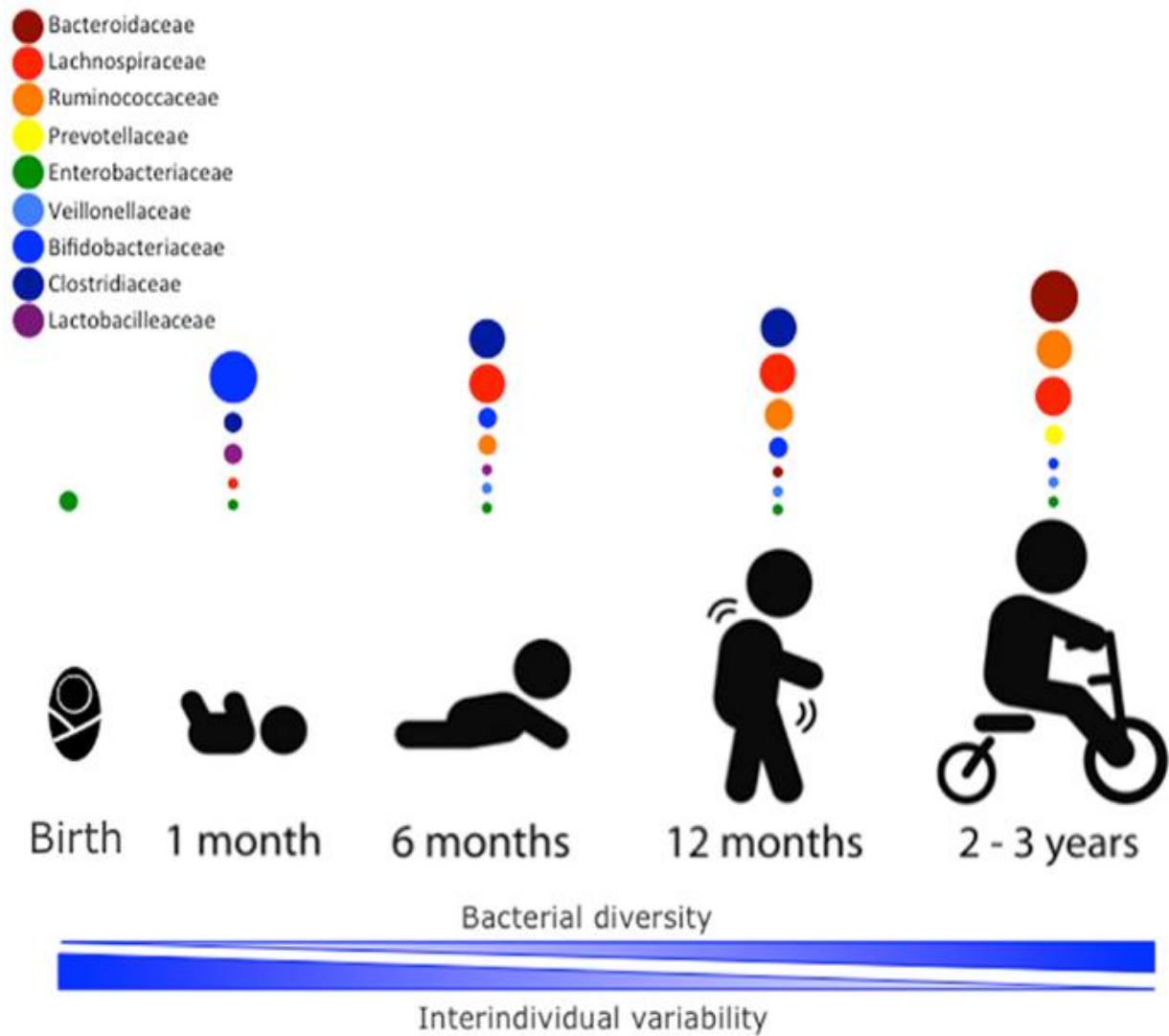


Protección contra microorganismos patógenos

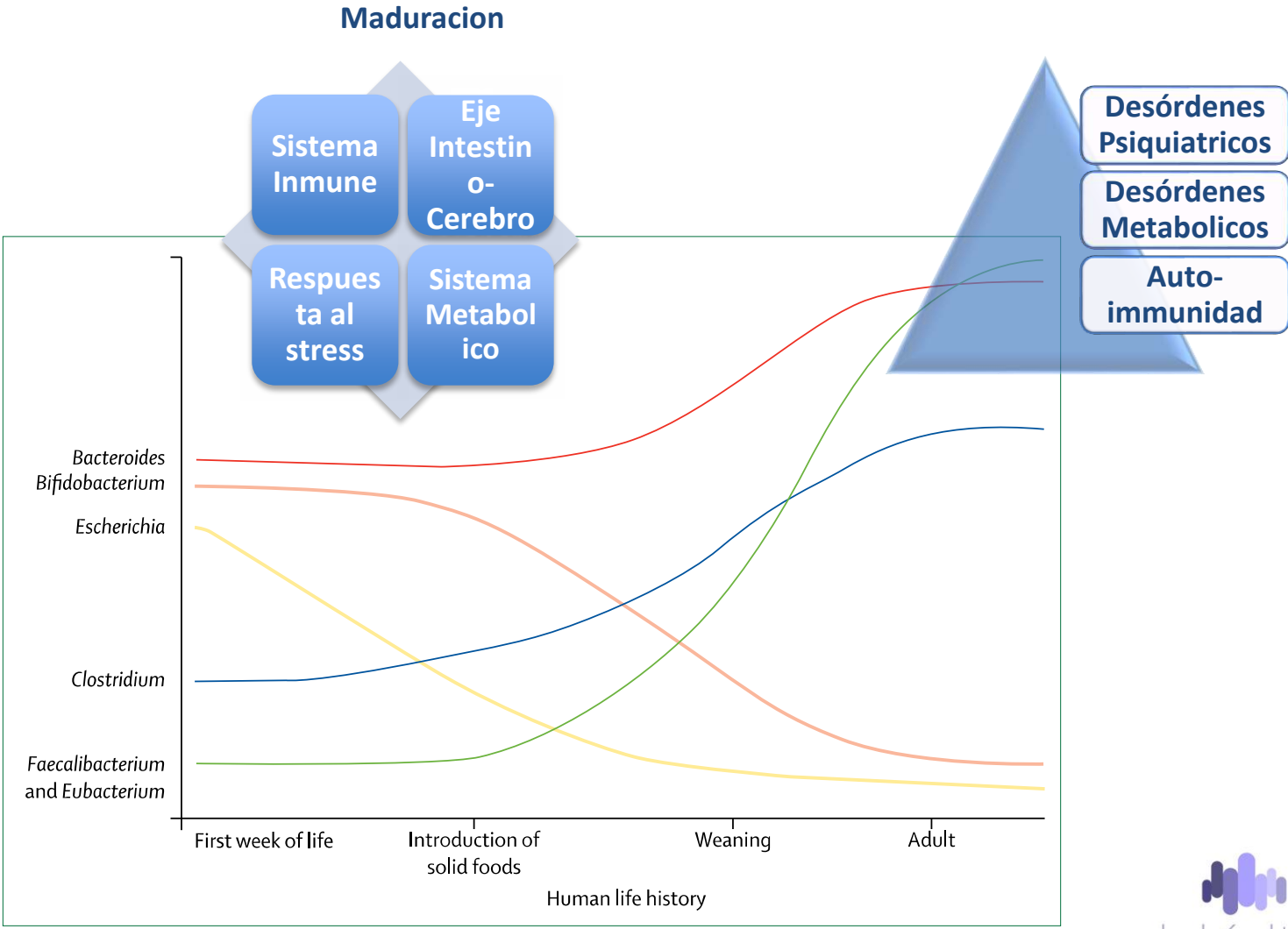
Eje Intestino - Cerebro



Desarrollo del microbioma

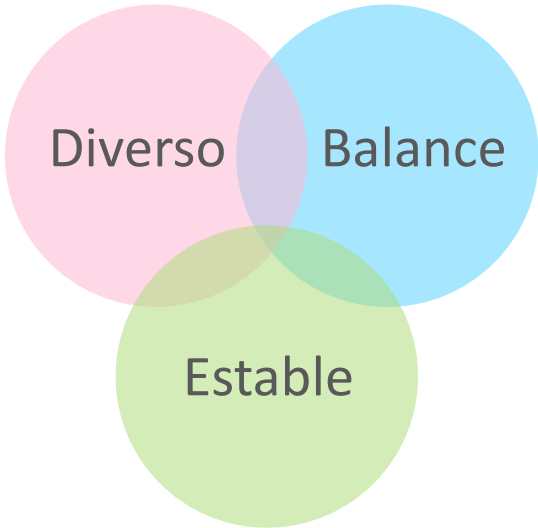


Desarrollo del microbioma

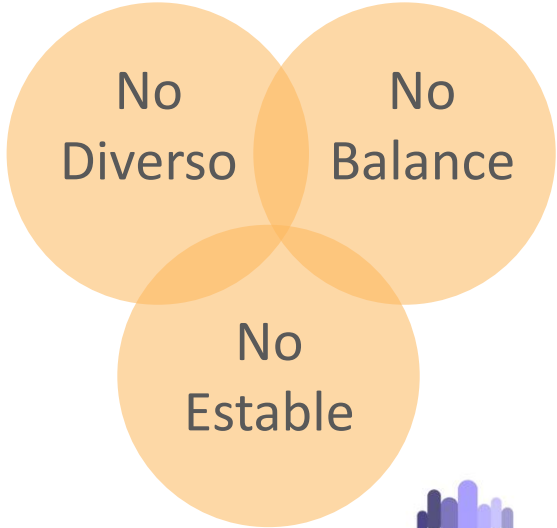


Rook et al (2017) *Lancet* 390: 521

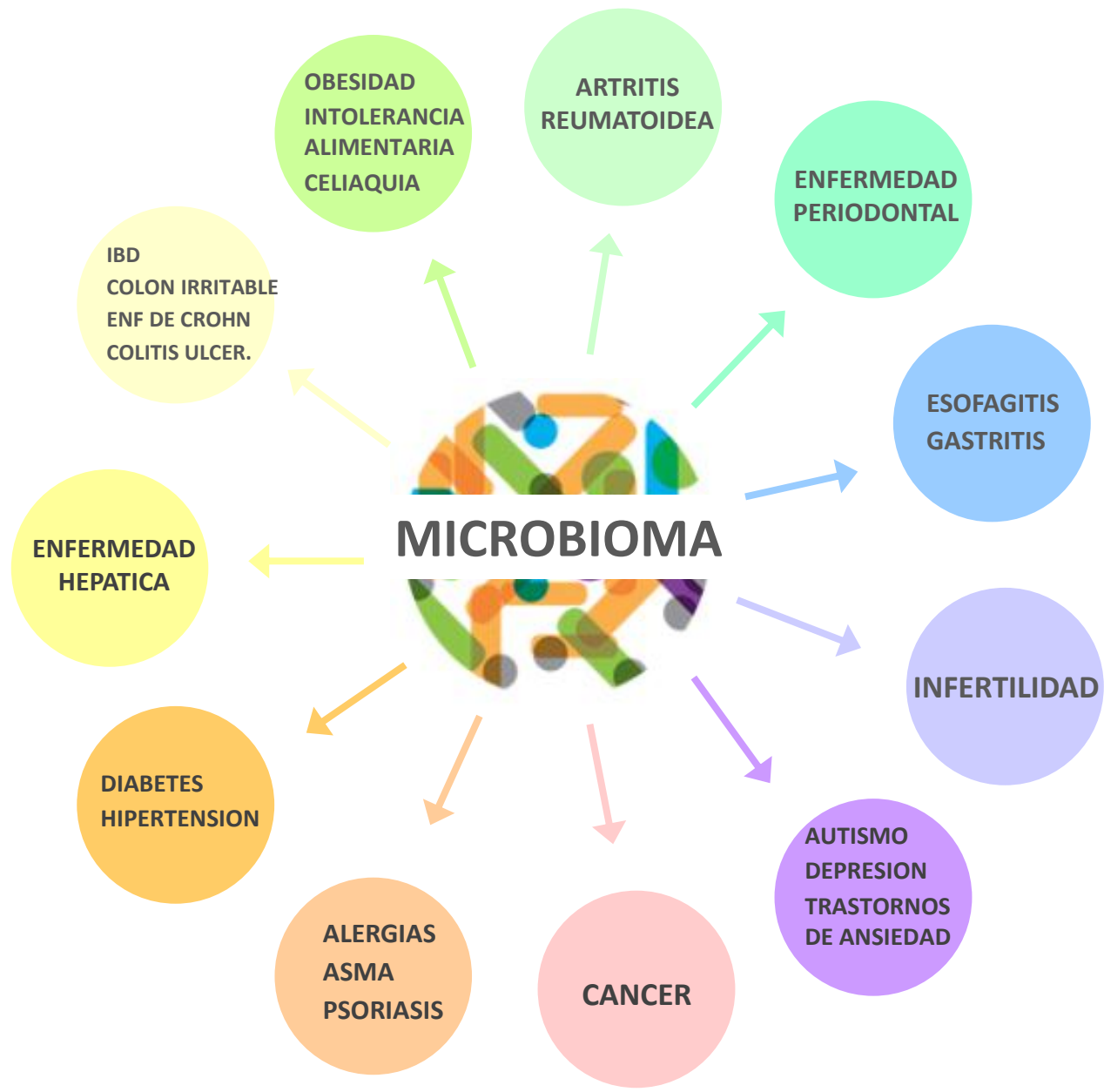
Salud y microbioma



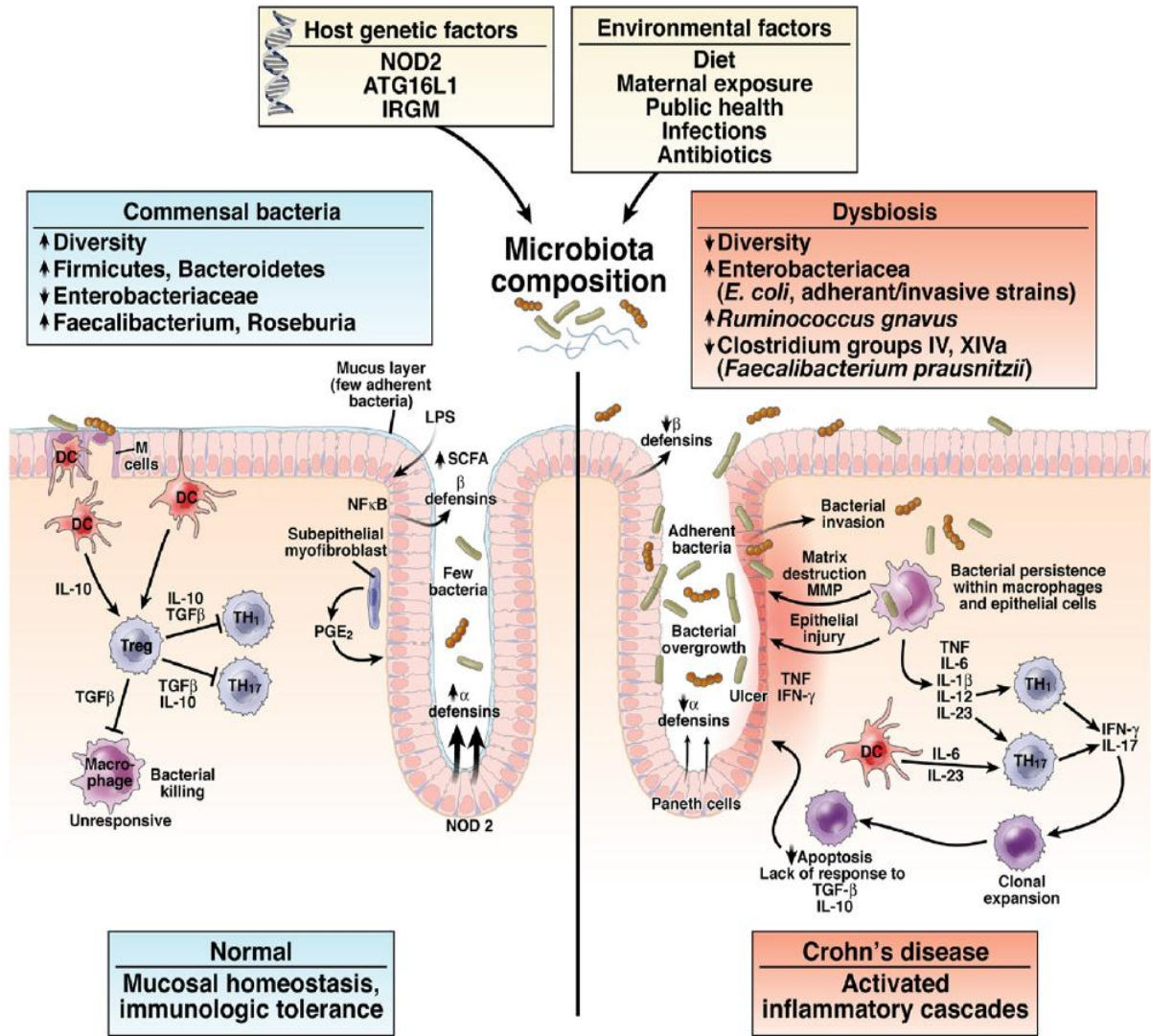
*Dieta, estilo de vida,
Salud mental, Antibioticos*



Salud y microbioma



Microbioma y Enf. Inflamatoria Intestinal





Microbiota: a key orchestrator of cancer therapy

Soumen Roy and Giorgio Trinchieri

VOLUME 17 | MAY 2017 | 271

CANCER IMMUNOTHERAPY

Gut microbiome influences efficacy of PD-1-based immunotherapy against epithelial tumors

Routy *et al.*, *Science* **359**, 91–97 (2018)

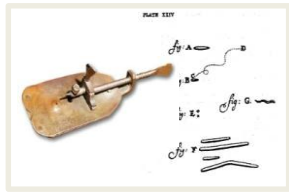
The commensal microbiome is associated with anti-PD-1 efficacy in metastatic melanoma patients

Matson *et al.*, *Science* **359**, 104–108 (2018)

Gut microbiome modulates response to anti-PD-1 immunotherapy in melanoma patients

Gopalakrishnan *et al.* *Science*. 2018 January 05; 359(6371): 97–103.





1676

Primer microscopio
Descripción de
primeros
microorganismos

1800s

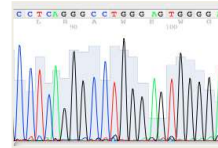
Relación entre
microorganismos
y enfermedad

1888-presente

R Koch: aislamiento
de microorganismos
en medio sólido



Cultivo, tinción y
microscopía para
microorganismos
cultivables



1977

Sanger:
secuenciación
del ADN

K. Mullis:
desarrollo
de la PCR

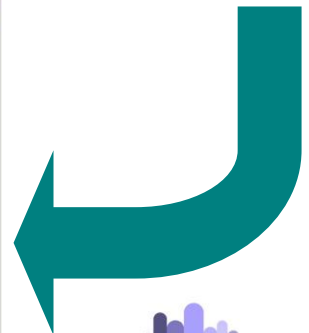
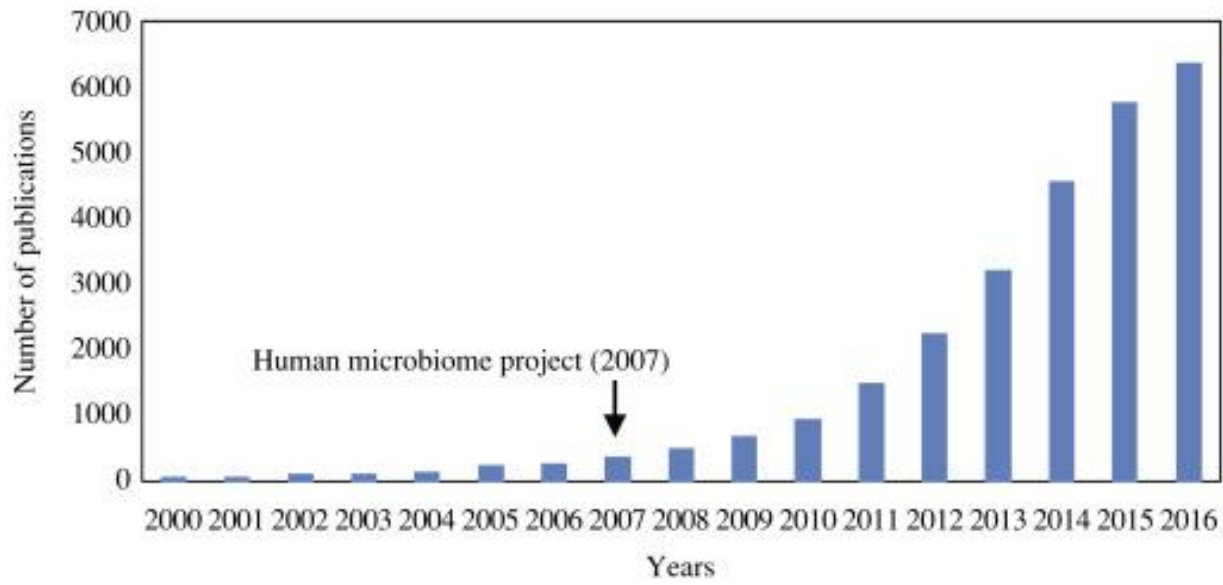
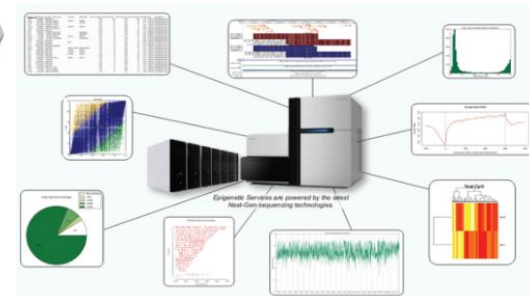
1980



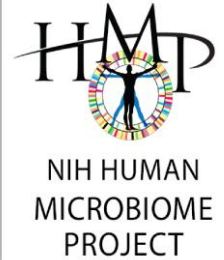
1990s

Next
Generation
Sequencing
(NGS)

2005



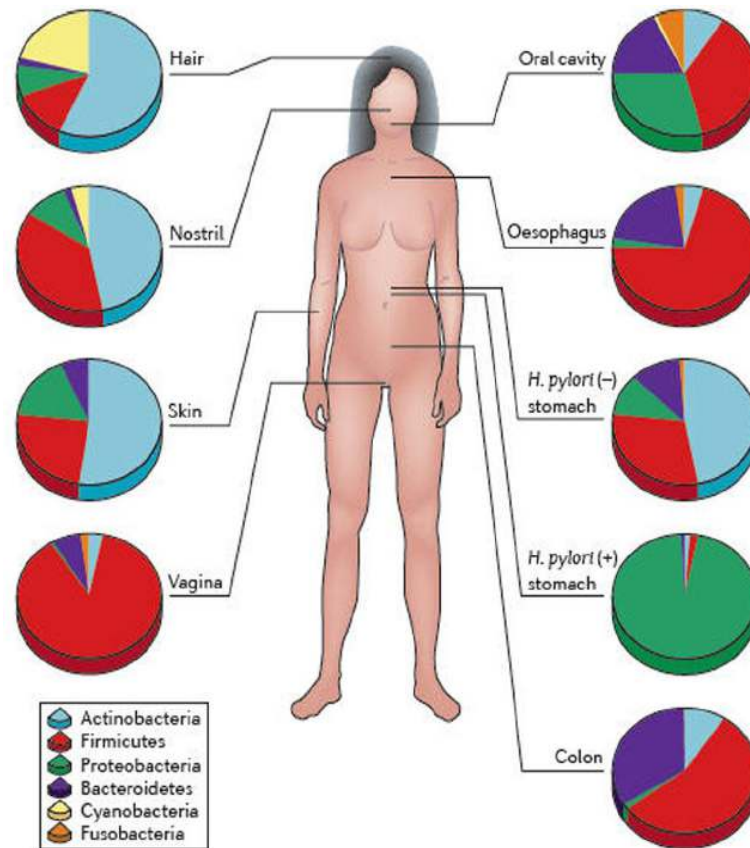
Human Microbiome Project 2008-2013



- Secuenciación de mas de 1300 cepas de referencia aisladas del cuerpo humano.
- Descripción de protocolos de laboratorio y bioinformáticos, estandarizados y controlados.
- Publicaciones de referencia en 2012- *Nature (2012) 486*



Human Microbiome Project 2008-2013



The integrative Human Microbiome Project (iHMP) 2014

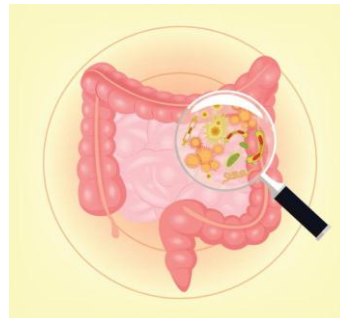


- Creación de base de datos integradas de propiedades biológicas del microbioma y el hospedador a partir de tres cohortes diferentes con condiciones asociadas a modificación del microbioma.

Embarazo y parto prematuro



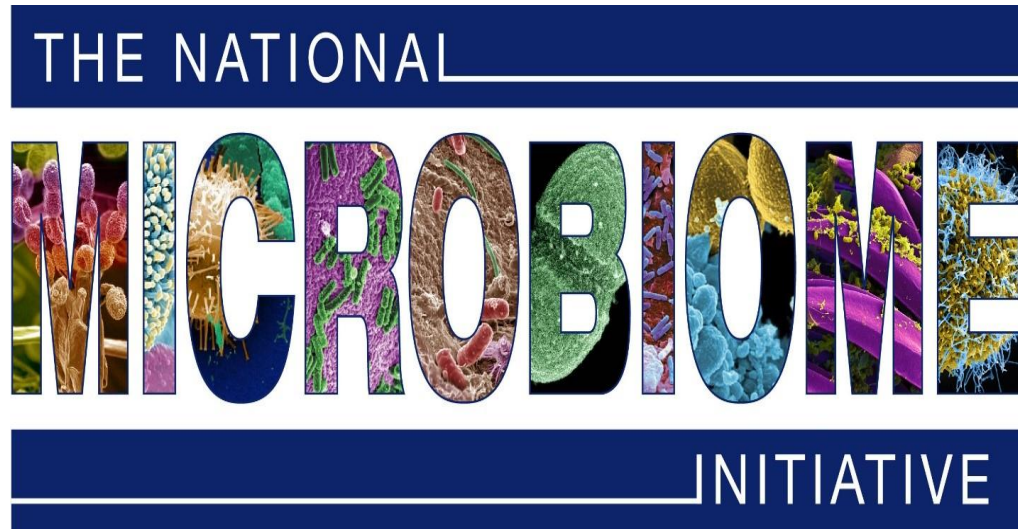
Enfermedad Inflamatoria Intestinal



Diabetes Tipo2

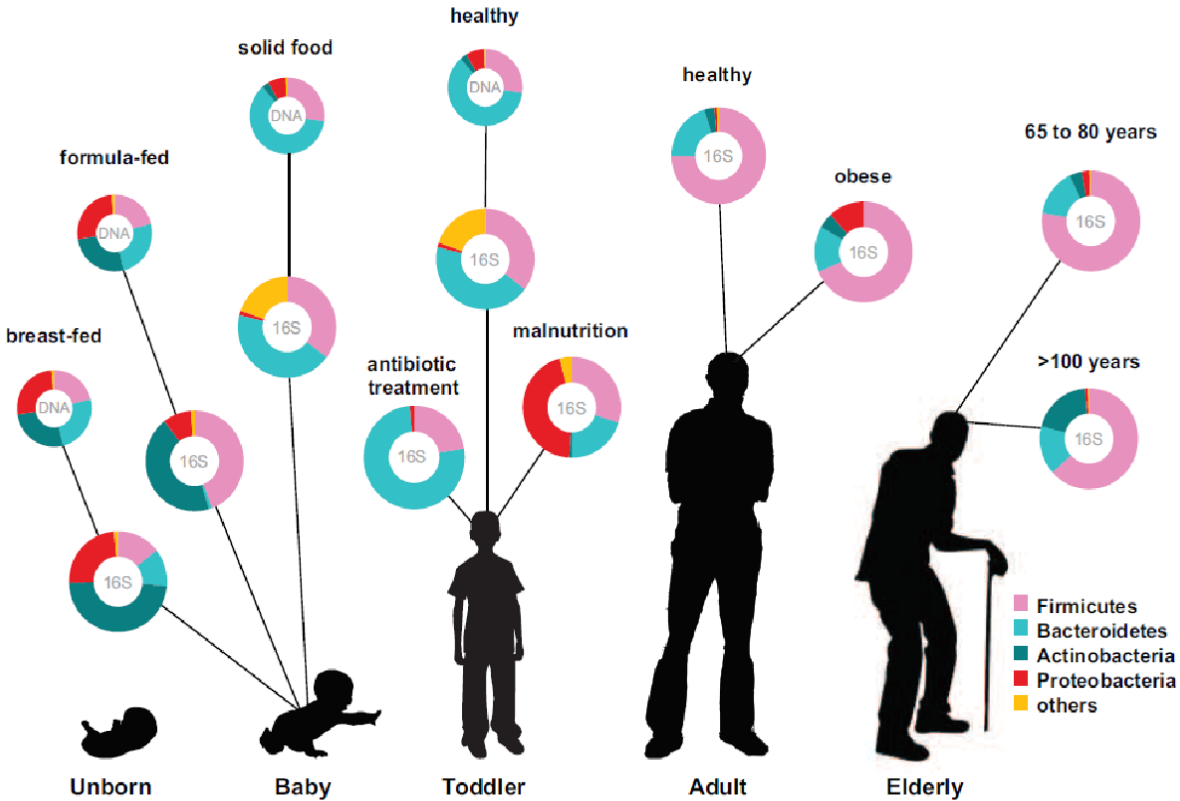


The Microbiome Initiative 2016

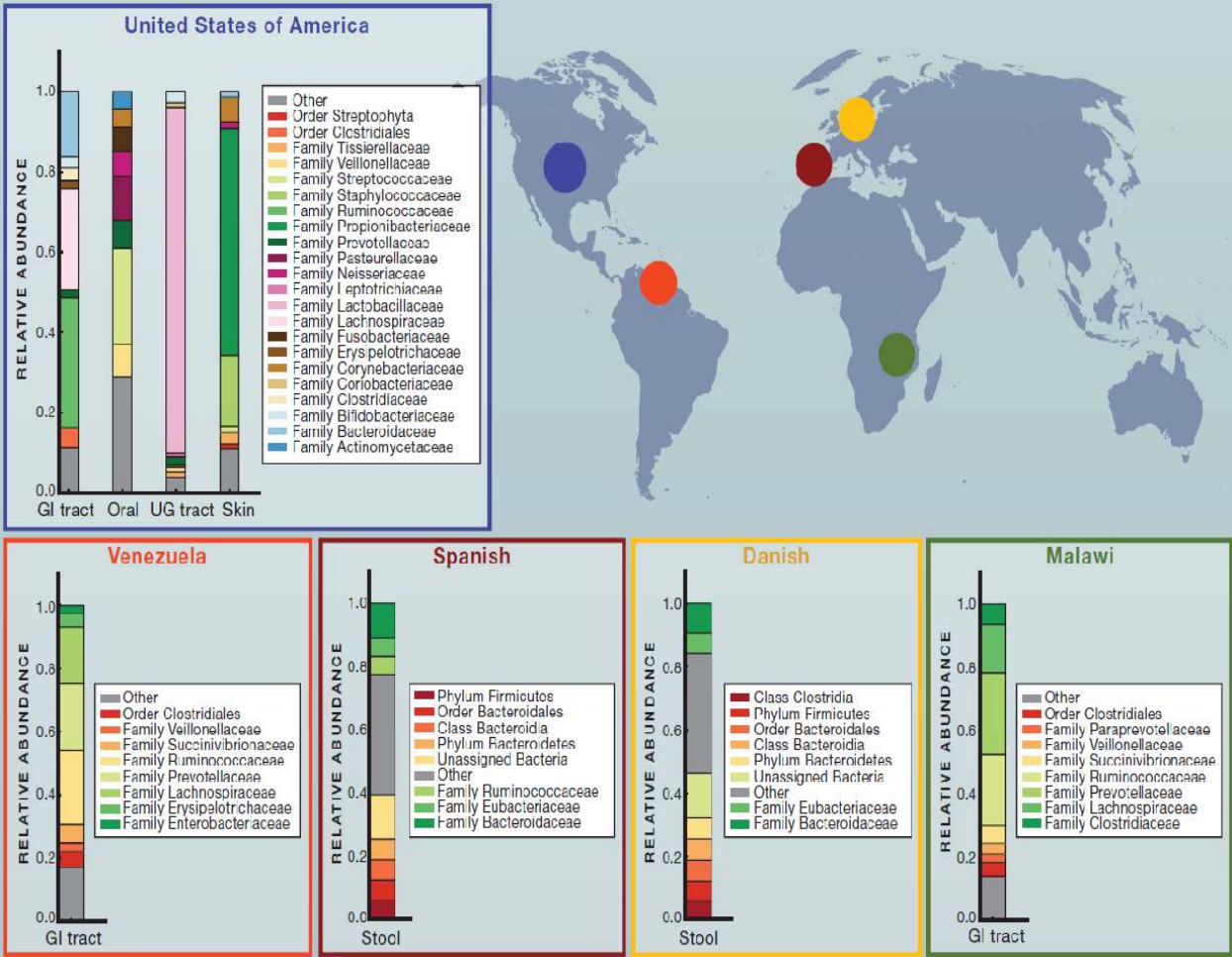


- Apoyar la investigación interdisciplinaria
- Desarrollo de plataformas tecnológicas
- usd\$ 121 millones inversión pública- usd\$ 400 millones de inversión privada

Composición del microbioma intestinal



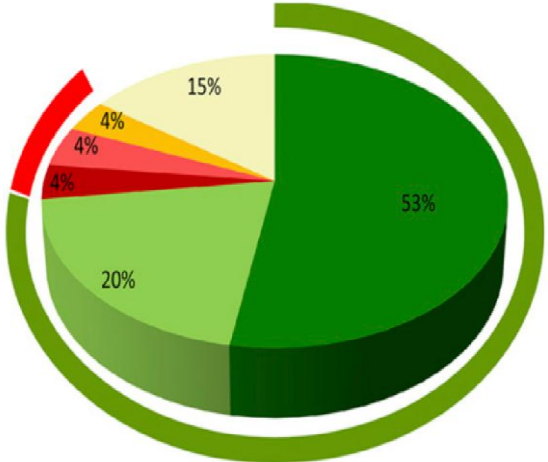
Composición del microbioma: diferencias geográficas



Composición del microbioma: diferencias geográficas



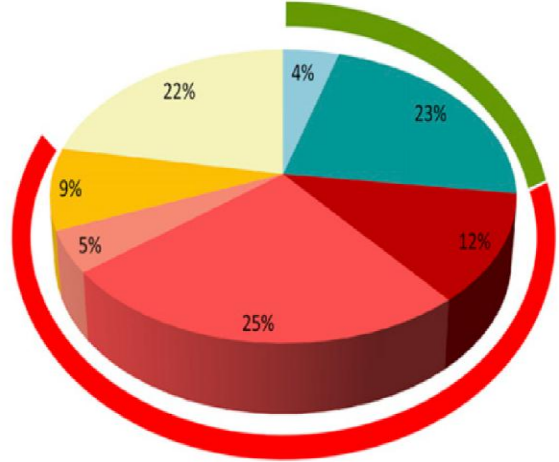
Boulpon, Burkina Faso



- BF**
- Prevotella } Bacteroidetes
 - Xylanibacter } Bacteroidetes
 - Acetitomaculum } Firmicutes
 - Faecalibacterium } Firmicutes
 - Subdoligranulum } Firmicutes
 - Others

- baja en grasas y proteínas animales
- rica en almidón, fibra y polisacáridos vegetales
- predominantemente vegetariana

Florenzia, Italia



- EU**
- Alistipes } Bacteroidetes
 - Bacteroides } Bacteroidetes
 - Acetitomaculum } Firmicutes
 - Faecalibacterium } Firmicutes
 - Roseburia } Firmicutes
 - Subdoligranulum } Firmicutes
 - Others

- alta en grasas, proteínas animales, azúcar y almidón
- baja en fibra

PNAS 107: 14691–14696 (2010)

Proyecto Microbioma Humano Argentino (2012-2014)

- Caracterizar el microbioma humano de la población adulta sana argentina
- 20 voluntarios sanos 18-50 años
- Plataforma NGS 454 ROCHE
- 10 sitios muestreados



DATA REPORT
published: 01 February 2016
doi: 10.3389/fmicb.2016.00051

Human Microbiota of the Argentine Population- A Pilot Study

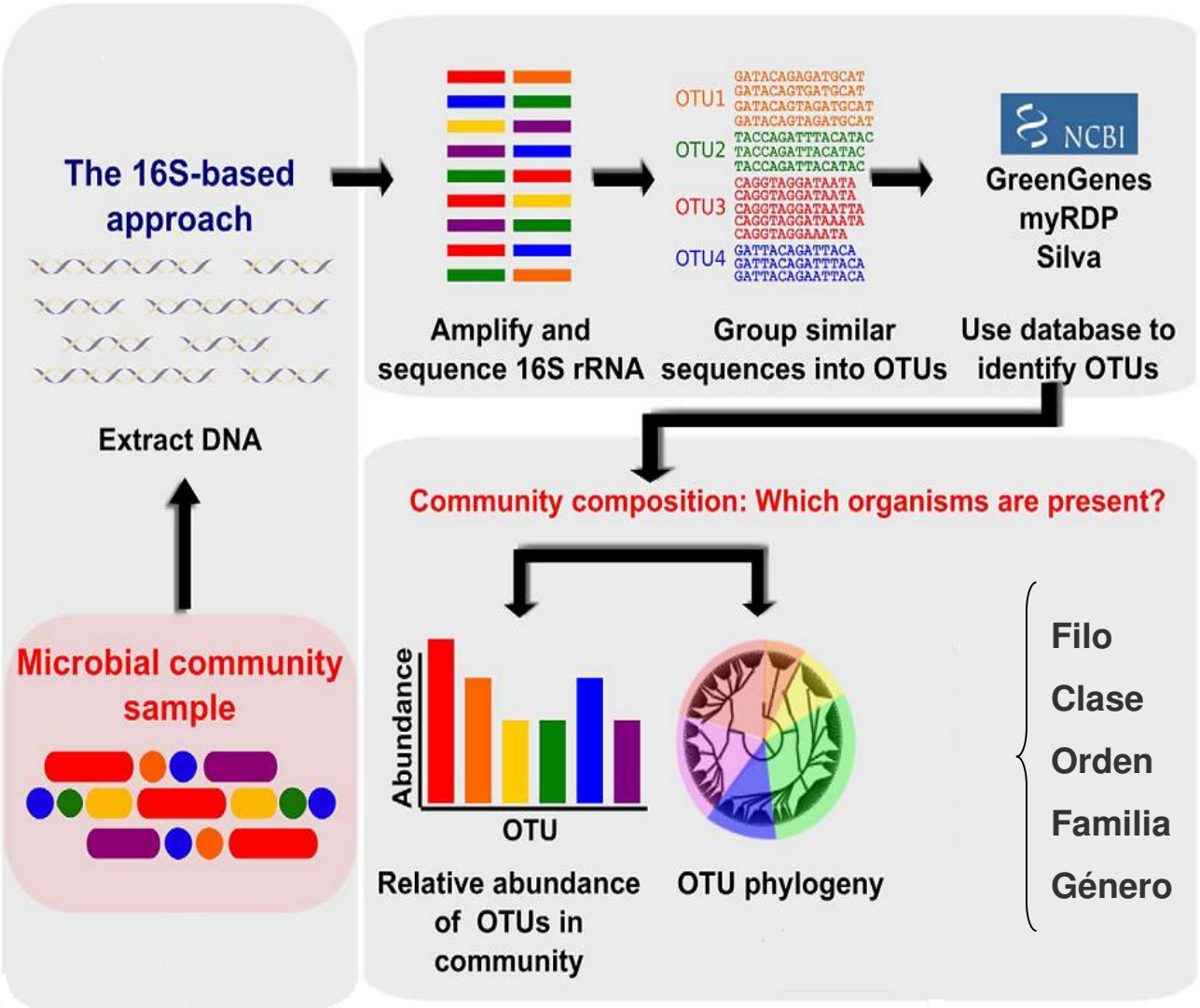
*Belén Carbonetto¹, Mónica C. Fabbro¹, Mariela Sciara², Analía Seravalle²,
Guadalupe Méjico², Santiago Revale¹, María S. Romero¹, Bianca Brun¹, Marcelo Fay²,
Fabián Fay² and Martin P. Vazquez^{1*}*



INDEAR
Instituto de Agrobiotecnología Rosario



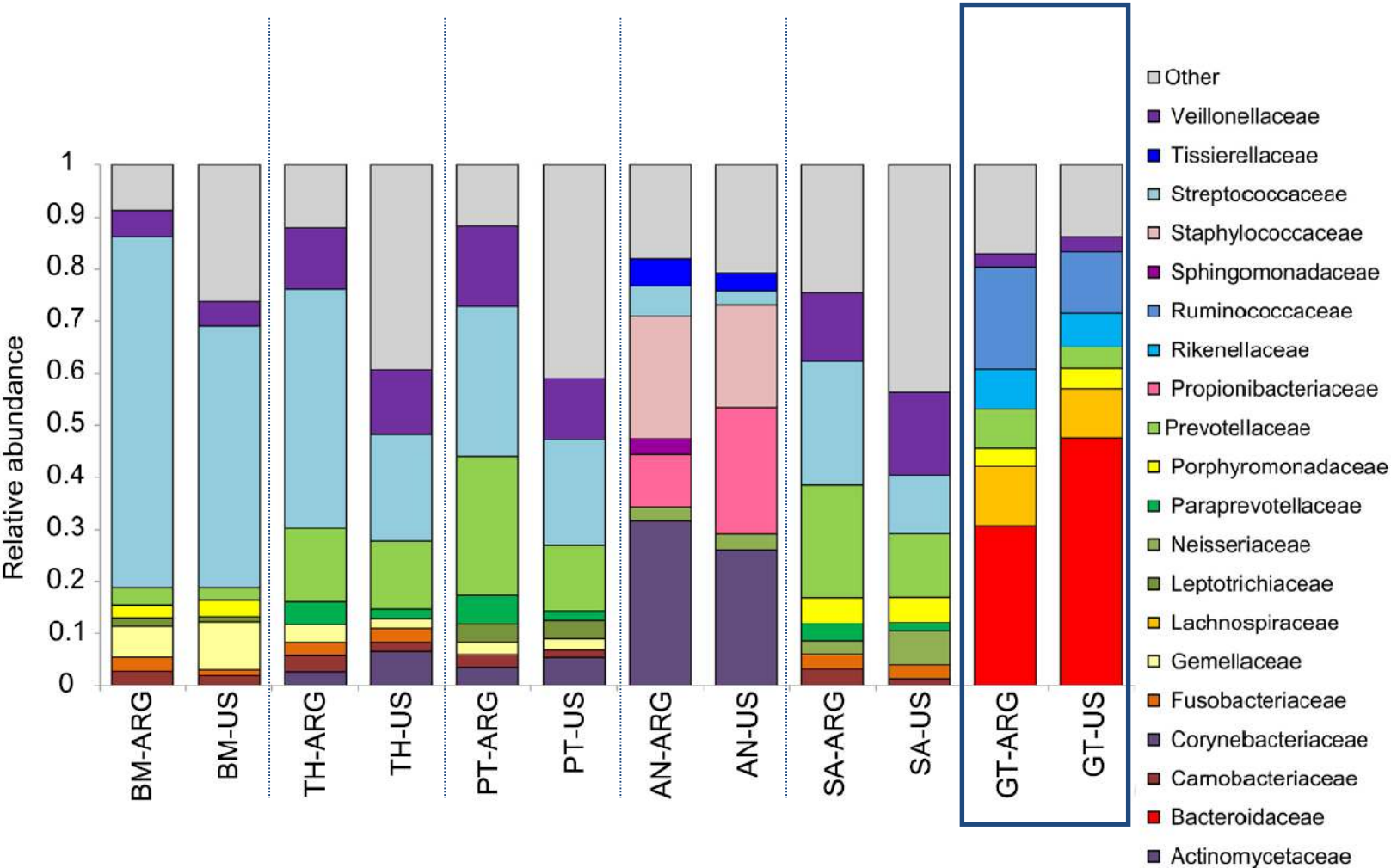
Proyecto Microbioma Humano Argentino (2012-2014)



Adaptación de Morgan X. et al (2012) PLOS Comput. Biol. 8(12):e1002808

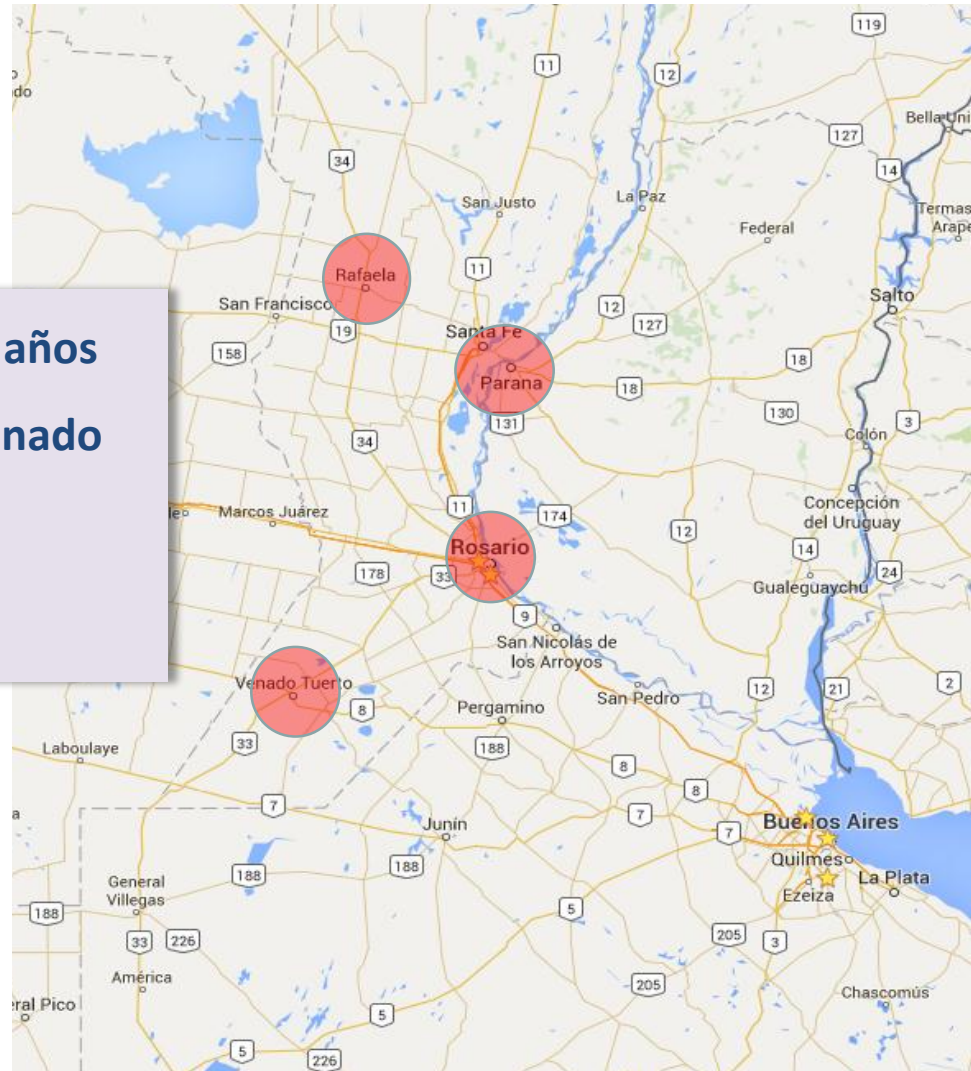
Proyecto Microbioma Humano Argentino (2012-2014)

Perfiles taxonómicos: Argentina vs HMP



Proyecto Microbioma Gastrointestinal y Metaboloma Argentino (2014-2016)

- ✓ 200 voluntarios sanos 18-50 años
- ✓ Rosario, Rafaela, Paraná y Venado Tuerto
- ✓ Materia fecal, suero y orina



Primer mapa del Microbioma Intestinal Argentino

Metadata

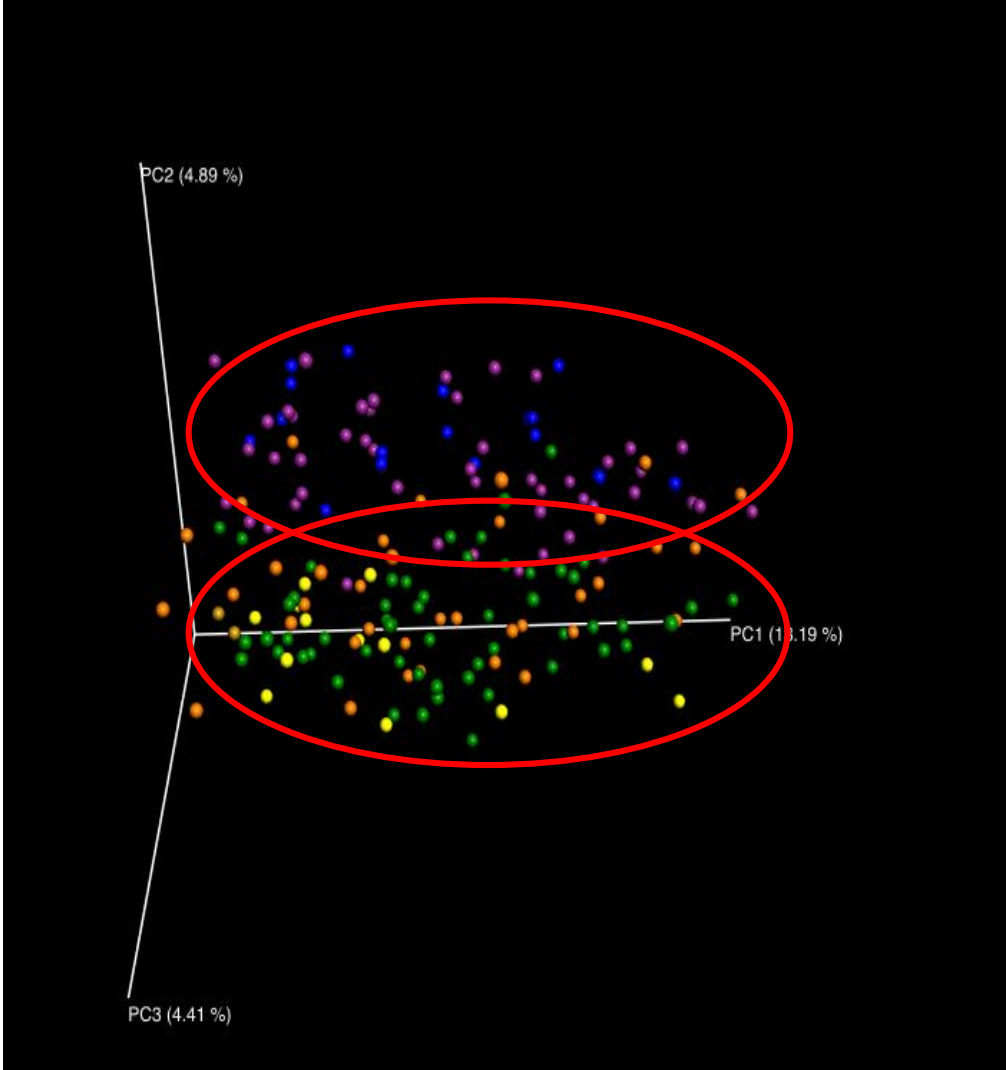
Analisis de Rutina	Antecedentes grales	Dieta	Historia Clinica	Medicación
GILICEMIA	HABITAT	TIPO DE DIETA	ENFERMEDAD DIAGNOSTICADA EN ULTIMOS 6 MESES	MEDICACION CRONICA
Bb TOTAL	EDAD	PRINCIPAL VEGETAL INGERIDO	TRASTORNOS ALERGICOS	MEDICACION CIRCUNSTANCIAL
Bb INDTA	SEXO	PRINCIPAL HIDRATO INGERIDO	TRASTORNOS PULMONARES	MEDICACION HOMEOPATICA
Bb DTA	NACIONALIDAD	%CARBOHIDRATOS INGERIDO	TRASTORNOS RESPIRATORIOS	
COLESTEROL	RESIDENCIA	FUENTE DE AGUA	ETIRPACION AMIGDALAS	
HDL	OCUPACION	ALCOHOL	TRASTORNOS HEMATOLOGICOS	
LDL	TABAQUISMO	SUPLEMENTOS VITAMINICOS	TRASTORNOS RENALES	
TG	HORAS DE SUEÑO	RESTRICCIONES DIETARIAS	TRASTORNOS UROGENITALES	
GOT	MANO DOMINANTE		TRASTORNOS GASTROINTESTINALES	
GPT	USO DE COSMETICOS		CIRUGIA APENDICE	
GGT	FRECUENCIA CEPILLADO DENTAL		EMBARAZOS	
FA	MASCOTAS			
CREATININA	VIAJE EN ULTIMOS 6 MESES			
UREMIA	EJERCICIOS			
CLORURO				
POTASIO				
SODIO				

Raw data e interpretación de resultados



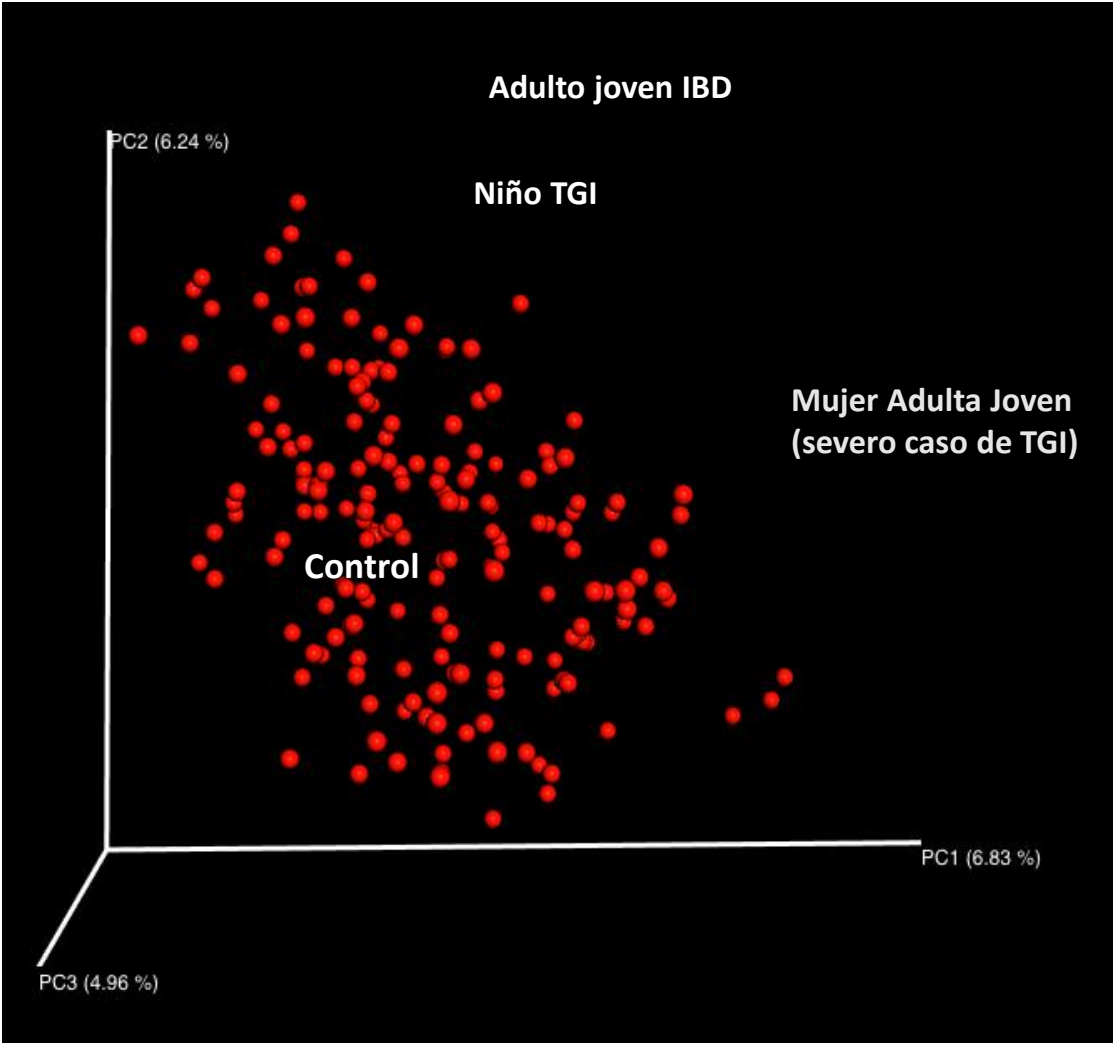
Primer mapa del Microbioma Intestinal Argentino

Unweighted Unifrac PCoA

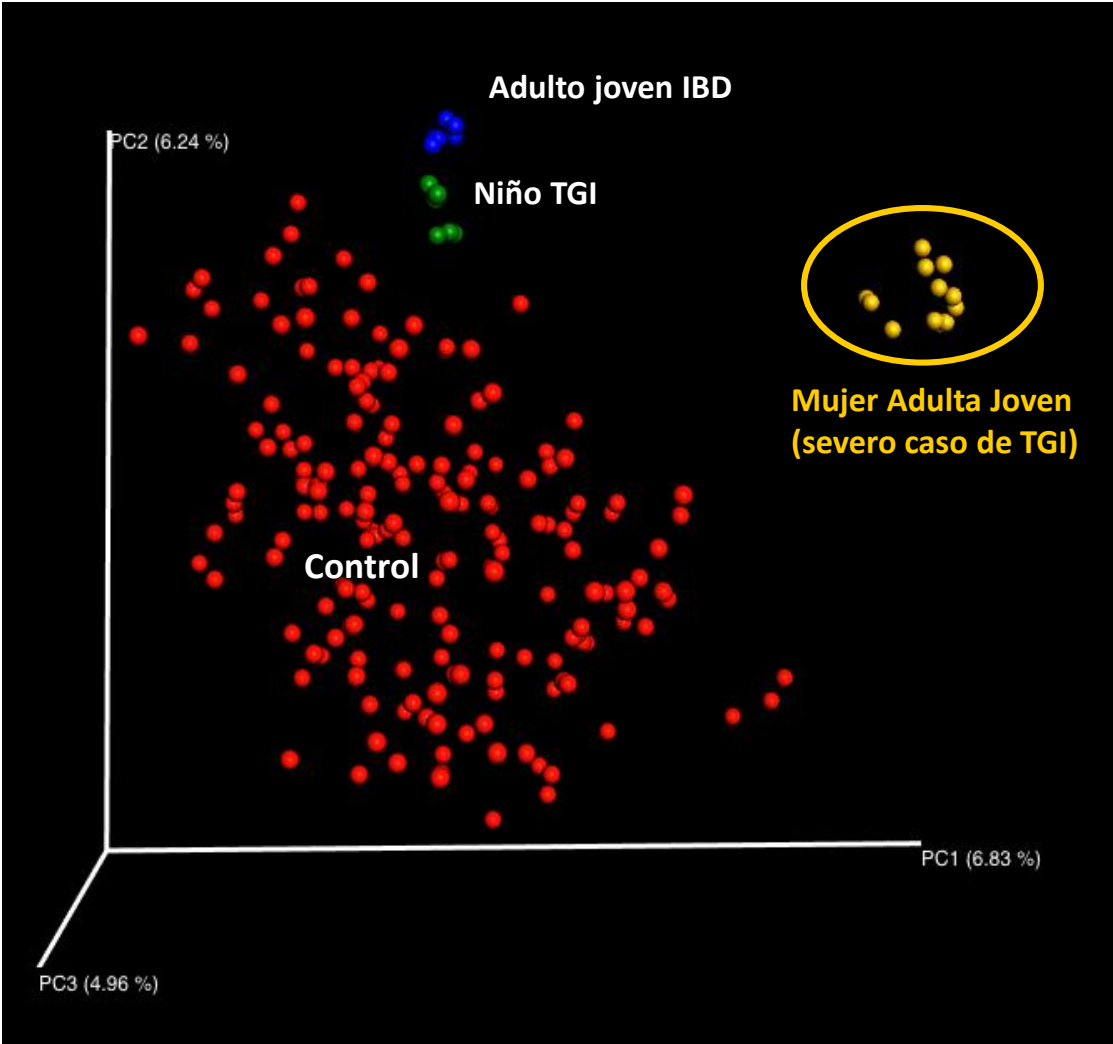


- Ctrol. 2012
- Rosario
- V Tuerto
- Paraná
- Rafaela

Primer mapa del Microbioma Intestinal Argentino

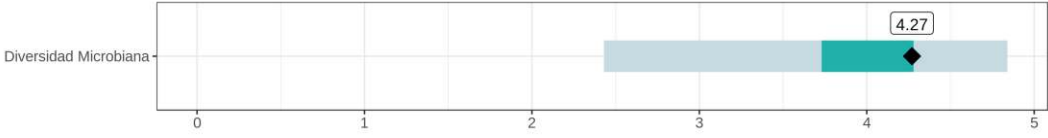


Casos testigo de disbiosis intestinal

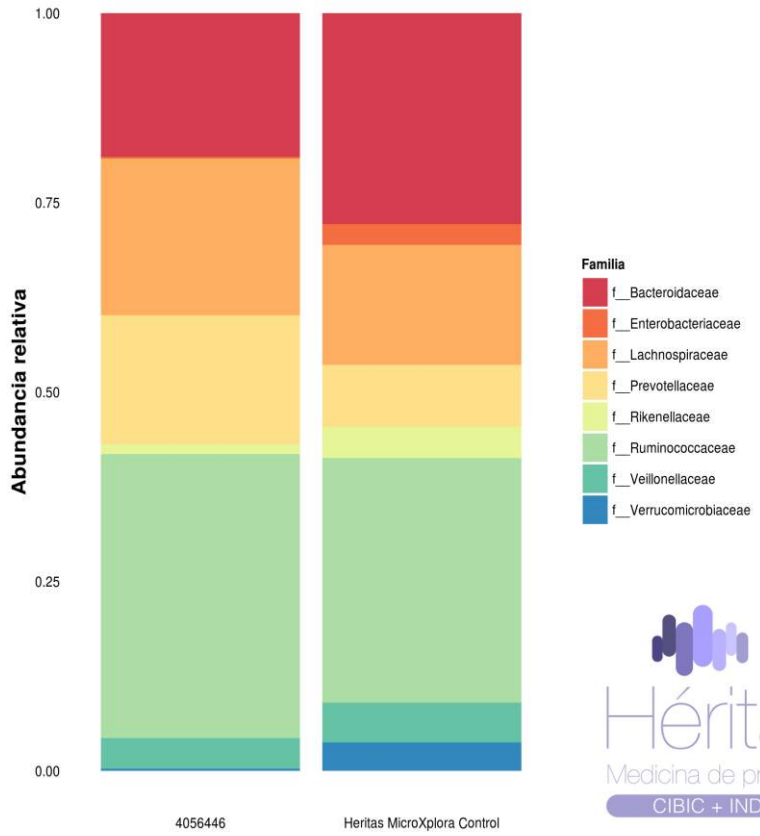
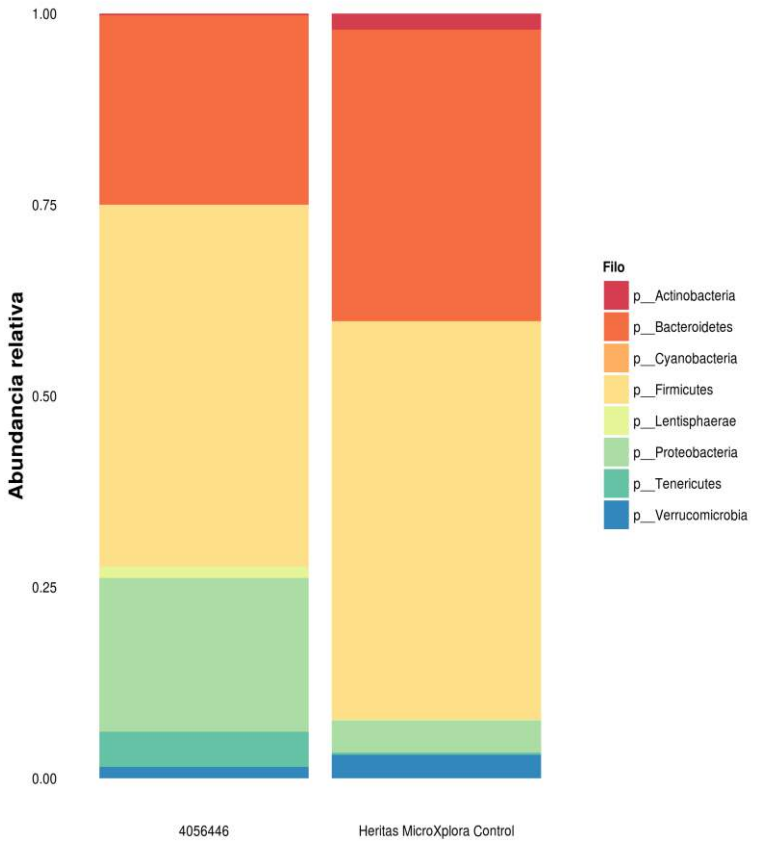


Casos testigo de disbiosis intestinal

Diversidad microbiana



Abundancia relativa



Casos testigo de disbiosis intestinal

Bacterias benéficas

Bacteria	Valores de Referencia*	Valor Muestra	Resultado
Akkermansia muciniphila	0.01 - 2.75	0.15	Normal
Faecalibacterium prausnitzii	3.79 - 13.02	3.15	Bajo
Bifidobacterium	0.07 - 1.31	0.20	Normal
Christensenellaceae	0.07 - 0.68	0.26	Normal

Bacterias en cantidades anómalas

Género	Resultado	Valor de Referencia*
g__Haemophilus	7.1070	0.6312
g__Campylobacter	0.0689	0.0272
g__5-7N15	0.0086	0.0000
g__Veillonella	1.6934	0.6203
g__Coprococcus	4.2675	3.8439



⊗ 1ª base de datos de microbioma intestinal a nivel local

⊗ En etapa de desarrollo como test diagnóstico

⊗ Líneas de trabajo actuales:



- ✓ *Impacto del microbioma intestinal en el desarrollo de cirrosis y HCC en NASH*
- ✓ *Impacto del microbioma intestinal en la diabetes insulino-dependientes en pacientes obesos sometidos a cirugía bariátrica.*
- ✓ *Impacto del microbioma bucal en el desarrollo de infecciones severas en niños inmunosuprimidos.*
- ✓ *Impacto del microbioma vaginal en pacientes con infertilidad sin causa aparente.*

Microbioma y Hepatocarcinoma (HCC)

Dr. Federico Piñero, Dr. Marcelo Silva

Hospital Austral. Unidad de Trasplante Hepático

6^{to} Tipo de cáncer más frecuente

2^{da} Causa de muerte por cáncer

✓ La cirrosis hepática de cualquier etiología incrementa el riesgo de desarrollar HCC.

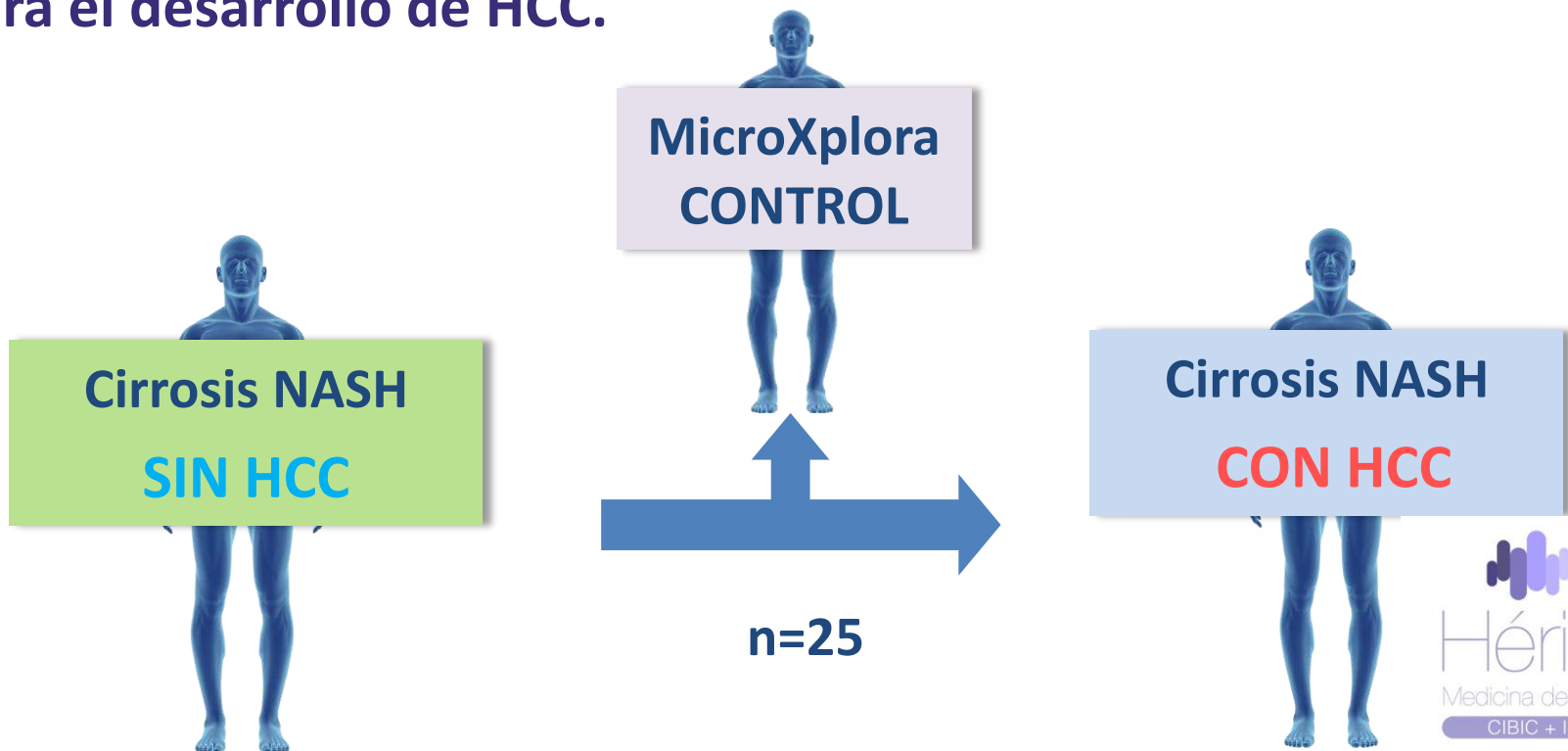
✓ Nuevo mecanismo carcinogénico que involucra señales pro-inflamatorias derivadas de cambios en el microbioma intestinal en modelos murinos

Microbioma y Hepatocarcinoma

Dr. Federico Piñero, Dr. Marcelo Silva

Hospital Austral. Unidad de Trasplante Hepático

- Comparar el microbioma en pacientes con esteatohepatitis no alcohólica (NASH) con cirrosis Child Pugh A-B con y sin HCC.
- Buscar un perfil o biomarcador de microbioma asociado a riesgo para el desarrollo de HCC.





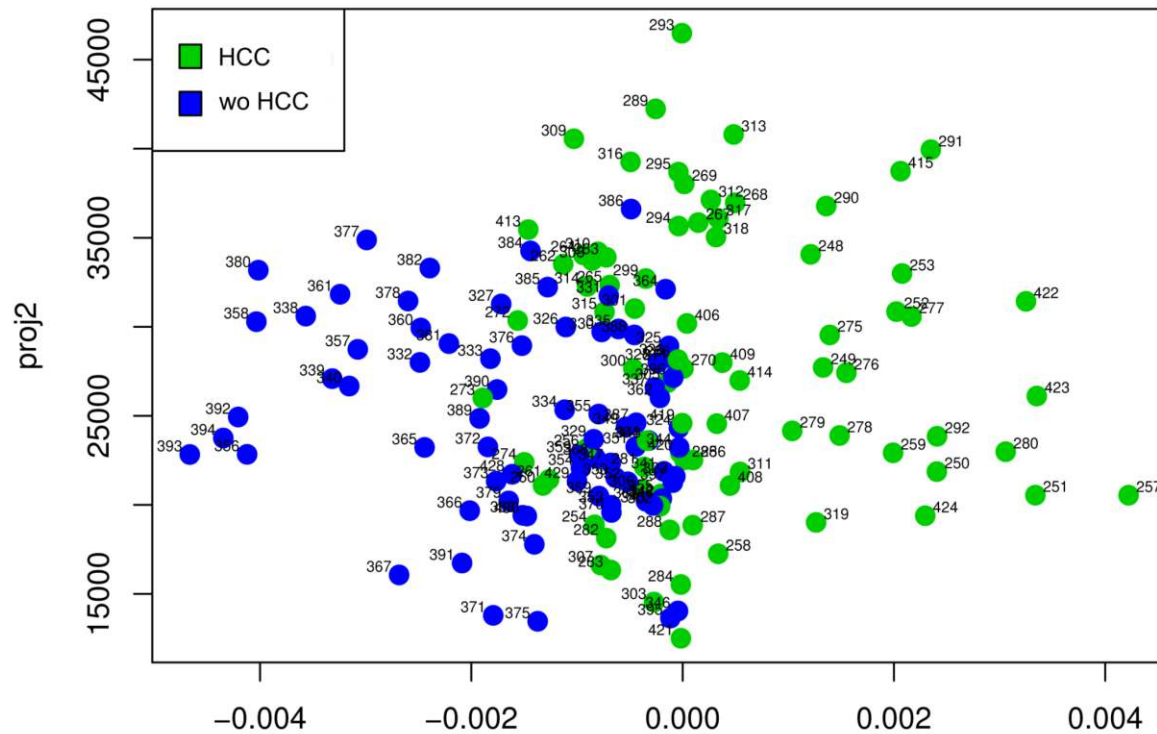
ANNALS of **Hepatology**

The Official Journal of the Mexican Association of Hepatology, the Latin-American Association for the Study of the Liver and the Canadian Association for the Study of the Liver

A Different Gut Microbiome Linked to Inflammation Found in Cirrhotic Patients With and Without Hepatocellular Carcinoma

Federico Piñero^{1*}, Martín Vazquez*, Patricia Baré, Cristian Rohr, Manuel Mendizabal, Mariela Sciara, Cristina Alonso, Fabián Fay and Marcelo Silva.

Diversidad del microbioma entre pacientes con y sin HCC

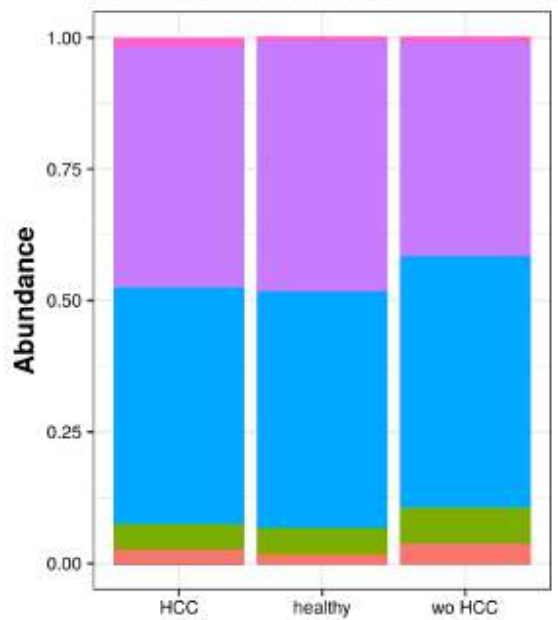


Análisis de distribución taxonómica. Composición.

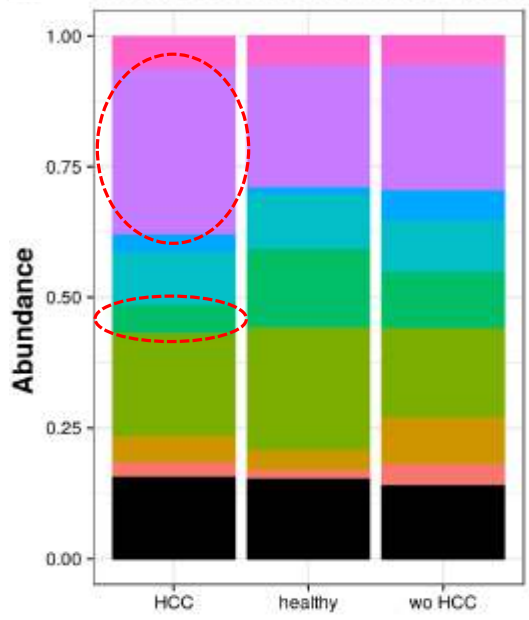
aumento de *Bacteroidaceae* aumento de *Bacteroides*
 disminución de *Prevotellaceae* disminución de *Prevotella*



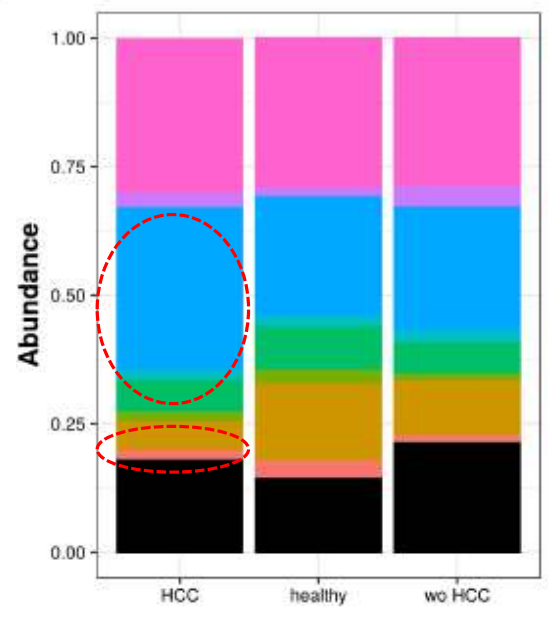
Relative abundance (Phylum)



Relative abundance (Family)



Relative abundance (Genus)



- Phylum**
- p__Actinobacteria
 - p__Bacteroidetes
 - p__Firmicutes
 - p__Fusobacteria
 - p__Lentisphaerae
 - p__Proteobacteria
 - p__Tenericutes
 - p__Verrucomicrobia
 - Other

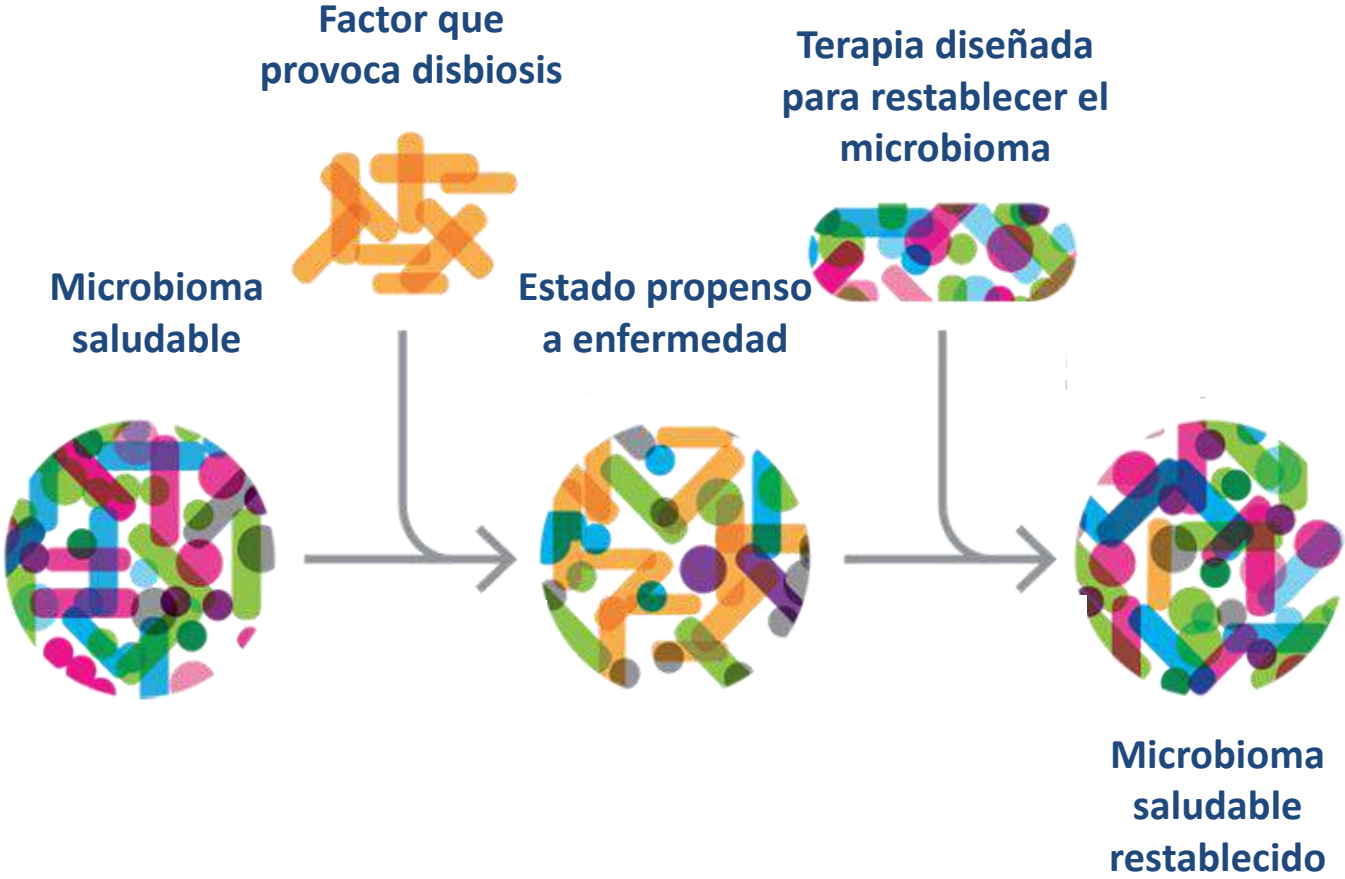
- Family**
- f__
 - f__Bacteroidaceae
 - f__Enterobacteriaceae
 - f__Lachnospiraceae
 - f__Prevotellaceae
 - f__Ruminococcaceae
 - f__Veillonellaceae
 - f__Verrucomicrobiaceae
 - Unknown
 - Other

- Genus**
- g__
 - g__Akkermansia
 - g__Bacteroides
 - g__Dialister
 - g__Faecalibacterium
 - g__Parabacteroides
 - g__Prevotella
 - g__Ruminococcus
 - Unknown
 - Other



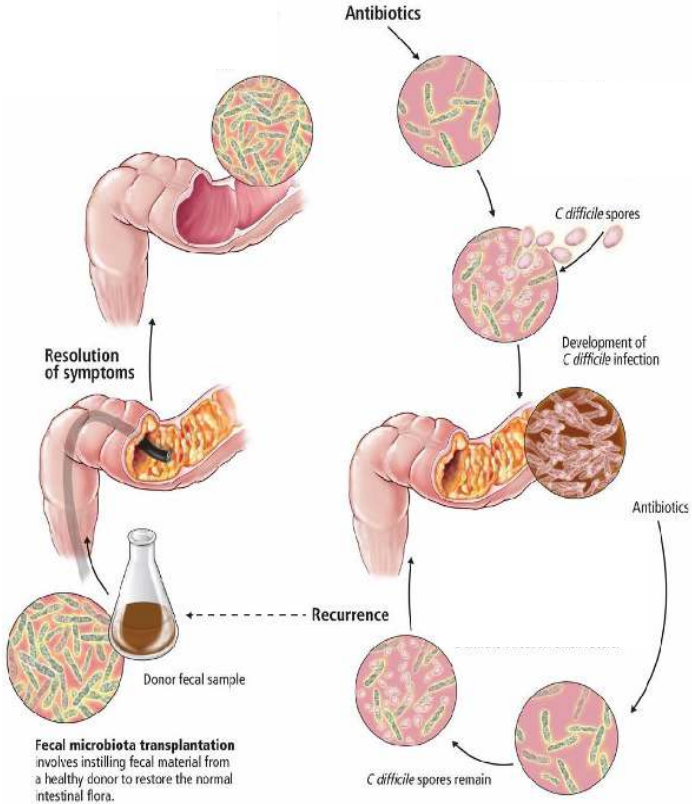
¿Hacia dónde vamos con la aplicación clínica del microbioma?

Aplicaciones del estudio del microbioma.

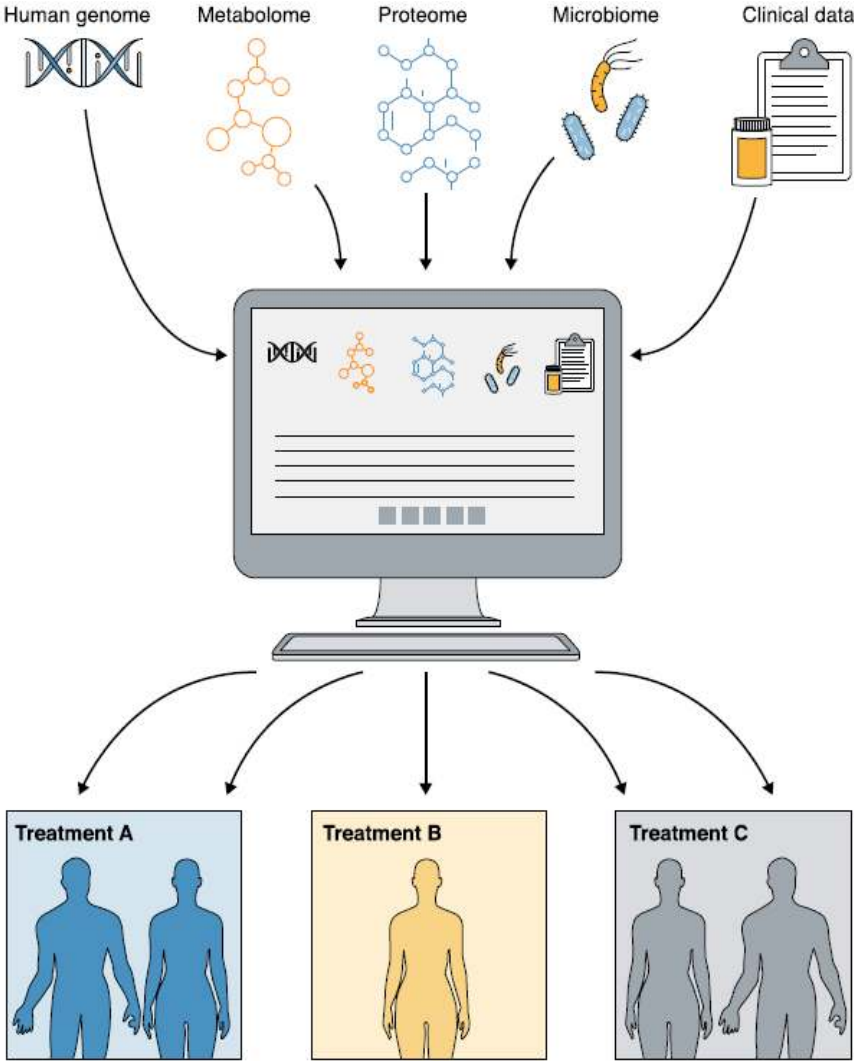


Modulación del microbioma como terapia.

Trasplante de materia fecal para tratar infección por *Clostridium difficile*.



Medicina de precisión



Muchas gracias!

msciara@cibic.com.ar