

# Comparación de Procesos Biológicos y Funciones Metabólicas en Diabetes Mellitus y Cáncer Pancreático con Análisis de Enriquecimiento

Carrillo Ramírez, Fabio Orlando  
*Bioingeniería*  
Universidad de Ingeniería y Tecnología - UTEC  
fabio.carrillo@utec.edu.pe

Narro Silva, Jairo David  
*Bioingeniería*  
Universidad de Ingeniería y Tecnología - UTEC  
jairo.narro@utec.edu.pe

Muramatsu Luy, María Paz  
*Bioingeniería*  
Universidad de Ingeniería y Tecnología - UTEC  
maria.muramatsu@utec.edu.pe

Ortiz Ruíz, Tamara Fatima  
*Bioingeniería*  
Universidad de Ingeniería y Tecnología - UTEC  
tamara.ortiz@utec.edu.pe

Sánchez Bringas, Sebastián Renato  
*Bioingeniería*  
Universidad de Ingeniería y Tecnología - UTEC  
sebastian.sanchez@utec.edu.pe

## I. INTRODUCCIÓN

La diabetes es una enfermedad crónica que se caracteriza por una producción y utilización inadecuada de insulina. La insulina es una hormona que permite regular la concentración de glucosa en la sangre. En la mayoría de casos las células beta del páncreas pierden la capacidad de producir insulina; esto genera que la glucosa no pueda ingresar a la célula. Los altos niveles de glucagón hacen que el hígado libere una mayor cantidad de glucosa en la sangre, a lo que se le denomina hiperglucemia. Con el tiempo esto va perjudicando a todos los sistemas del cuerpo, incluyendo el sistema nervioso y cardiovascular. Dentro de los tipos de diabetes que existen está la diabetes tipo 1 y tipo 2 (OMS, 2021). La diabetes tipo 1 por lo general se presenta en personas más jóvenes y ocurre cuando se tiene una producción insuficiente de insulina. Se considera una enfermedad autoinmune ya que las células T del cuerpo atacan a las células beta del páncreas (Frederick, 2020). La diabetes tipo 1 es la menos común por lo que un paciente requiere inyecciones de insulina el resto de su vida. Por otro lado, la diabetes tipo 2 suele presentarse en personas adultas, en este caso se da que el cuerpo no produce la cantidad necesaria de insulina para su correcto funcionamiento o presenta una resistencia a la insulina, por lo que no puede utilizarla efectivamente (Lal, 2016). Una de las principales causas de la resistencia a la insulina es la obesidad. Debido a que la naturaleza de la diabetes recae en el funcionamiento del páncreas, nos pareció interesante investigar si existe alguna relación entre la diabetes y alguna otra enfermedad del páncreas, tal como el cáncer de páncreas.

En los últimos años la incidencia de cáncer de páncreas ha

incrementado, posicionándose entre los cinco tipos de cáncer más mortales en Estados Unidos y Japón (Siegel, Miller, Fuchs, et al., 2021). Debido a que el cáncer de páncreas carece de sintomatología específica, muchos pacientes son diagnosticados muy tarde, cuando ya hay muy pocas opciones de tratamiento. La diabetes tipo 2 es considerada como un factor de riesgo para una serie de enfermedades y cánceres, y se ha encontrado que personas con diabetes tipo 2 tienen mayor prevalencia de desarrollar cáncer de páncreas (Li D, 2012). En la presente investigación buscamos comparar los procesos biológicos entre la diabetes y el cáncer pancreático para potencialmente identificar qué procesos o rutas metabólicas pueden considerarse como factores de riesgo.

## II. OBJETIVOS

- Identificar y visualizar los genes diferencialmente expresados.
- Desarrollar un análisis de enriquecimiento por procesos biológicos y rutas metabólicas usando el análisis hipergeométrico y la prueba de Fisher
- Identificar la relación entre los procesos biológico y rutas metabólicas entre las distintas patologías.

## III. METODOLOGÍA

### A. Recolección de datos

Para este estudio se utilizaron tres datasets obtenidos de la base de datos GEO de ncbi. Los perfiles de expresión pertenecen a pacientes con diabetes mellitus tipo 1, pacientes con diabetes mellitus tipo 2, pacientes con cáncer pancreático y sus respectivos grupos control. Todas las muestras fueron recolectadas de células mononucleares de sangre periférica.

La primera base de datos seleccionada para este análisis proviene del estudio "Inflammatory pathways in peripheral blood expression profile of recent-onset type 1 diabetes", cuyo objetivo fue identificar las vías inflamatorias presentes en los perfiles de expresión de células mononucleares de sangre periférica en pacientes con diabetes tipo 1 diagnosticada en los últimos 6 meses. Se definieron dos grupos: el grupo de pacientes con T1D y el grupo control, con 20 voluntarios para cada grupo.

Otra base de datos seleccionada fue la del artículo "Novel Blood biomarkers of pancreatic cancer associated diabetes identified by peripheral blood-based gene expression profiles". El objetivo de este estudio fue identificar biomarcadores específicos para la diferenciación entre la diabetes asociada al cáncer y la diabetes tipo 2 y el diagnóstico temprano de cáncer pancreático. Se recolectaron 102 muestras de células mononucleares de sangre periférica. En este caso se tuvieron 25 pacientes con diabetes tipo 2 y 25 voluntarios en el grupo control.

Finalmente, se seleccionó la base de datos del artículo "Development of novel diagnostic system for pancreatic cancer, including early stages, measuring mRNA of whole blood cells". En este estudio se llevó a cabo la detección de la expresión de 56 genes para diferenciar entre pacientes con adenocarcinoma ductal pancreático e individuos sanos. Se tuvieron 53 pacientes con PDAC y 102 en el grupo control.

### B. Selección de genes diferencialmente expresados

Para todos los conjuntos de datos, se utilizó como universo de genes la tabla completa de genes que se obtiene a través de GEO2R. Para los genes seleccionados se utilizaron los genes con diferencia significativa en expresión a partir de un p-value de 0.05, estos se obtuvieron del volcano plot también disponible a través de GEO2R. Adicionalmente, se filtraron los genes seleccionados que tuvieran un log(fold change) mayor a -2 y menor a 2 ya que la mayor cantidad de genes significativamente diferenciados se encuentran en este rango.

En el caso de la base de datos para diabetes tipo 1 el universo de genes para este dataset fue de 60901 genes, y los genes significativos extraídos fueron 1283. Para la base de datos para diabetes tipo 2 el universo de genes para este dataset fue de 38689 genes, y los genes significativos extraídos fueron 667. Para la base de datos de cáncer de páncreas el universo de genes para este dataset fue de 31899 genes, y los genes significativos extraídos fueron 14676.

### C. Paquetes, librerías y comandos

El análisis de los datos se llevó a cabo en R. Los paquetes principales que se utilizaron para el análisis de enriquecimiento fueron los siguientes:

**org.Hs.eg.db: Genome wide annotation for Human.** Este paquete permite la anotación de genes de humanos basándose en códigos de genes tipo EntrezGene (Carlson, 2019). **Gostats: Tools for manipulating GO and microarrays.** Este paquete permite manipular y analizar datos de microarray y tipo GO. En este caso la función más importante que utilizamos de este

paquete fue hyperGTest() para el análisis de enriquecimiento por ontologías y rutas KEGG (Falcon Gentleman, 2007). **topGO: Enrichment Analysis for Gene Ontology.** Este paquete provee herramientas para analizar términos GO. En este caso la función más importante que utilizamos de este paquete fue runTest() para realizar la prueba de Fisher clásica sobre nuestros datos (Alexa Rhahnenfuhrer, 2022). **biomaRt: Interface to BioMart databases.** Esta librería permite el acceso a información genética de distintos repositorios online (Durink, Spellman et al., 2009).

Adicionalmente utilizamos la librería **ggplot2** para la generación de los gráficos.

### D. Carga y preparación de datos

Los archivos de todas las bases de datos se descargaron como archivo TSV y se cargaron con la función read.csv(). Debido a que el análisis de enriquecimiento que decidimos usar requiere que los genes estén en formato EntrezGene, tuvimos que convertir los códigos de los genes de dos de las bases de datos a este formato. Las base de datos de diabetes tipo 2 y de cáncer de páncreas estaban en el formato del microarray que utilizaron: affy hg u133 plus 2 y agilentwholegenome respectivamente. Para hacer la conversión de los códigos se utilizó la función getBM() de biomaRt. Esta función nos permitió encontrar los códigos equivalentes de EntrezGene para cada base de datos. A partir de esto exportamos estos datos convertidos como un nuevo archivo para no tener que realizar la conversión más de una vez. Para cada base de datos tuvimos 3 archivos: los genes seleccionados **target-set**, el universo de genes **gene-universe**, y el universo de genes con la data de p ajustado, p valor y logFC **full-data**.

### E. Análisis de enriquecimiento

El análisis de enriquecimiento es una técnica de análisis para identificar grupos de genes sobrerrepresentados en una base de datos, e identificar su relación con ciertos procesos biológicos y rutas metabólicas (Subramanian, Tamayo, Mootha et al., 2005). Para todas los conjuntos de datos se utilizó la base de datos org.Hs.eg.db para relacionar los genes con las anotaciones GO y determinar los procesos biológicos y funciones metabólicas más relevantes en los perfiles de expresión. Para este análisis se comenzó creando un objeto tipo S4 con la función new() con los siguientes parámetros:

```
```{r}
paramsGO_T1D <- new("GOHyperGParams", geneIds = target_set_T1D$EntrezGeneID,
universeGeneIds = gene_universe_T1D$EntrezGeneID, annotation =
"org.Hs.eg.db", ontology = "BP", pvaluecutoff = 0.01, conditional = FALSE,
testDirection = "over")
```
```

Fig. 1: Código 1

Creamos este objeto para cada base de datos cambiando los archivos que se utilizaban para geneID's y geneUniverseID's y ontología de acuerdo a si queríamos ver procesos biológicos (BP) o funciones metabólicas (MF). A partir de esto, realizamos un análisis hipergeométrico con la función hyperGTest() para determinar los términos GO enriquecidos.

También realizamos un análisis de enriquecimiento para rutas metabólicas con la función `hyperGTest()`, en este caso el objeto `new` se vio así:

```

[[{r}
KEGGParams_T1D <- new("KEGGHyperGParams", geneIds =
target_set_T1D$EntrezGeneID, universeGeneIds
= gene_universe_T1D$EntrezGeneID, annotation = "org.Hs.eg.db", pvaluecutoff =
0.01, testdirection = "over")
]]

```

Fig. 2: Código 2

1) *Análisis de enriquecimiento con prueba de Fisher:*  
Este método nos permitió obtener una ‘puntuación’ asociada a cada ontología, así como comparar resultados con lo obtenido a través de las pruebas hipergeométricas. Para realizar este análisis primero tuvimos que generar una lista de los códigos genéticos y las ontologías a las que están relacionados. Hicimos esto extrayendo la información de ontologías para cada gen en nuestro universo y colocándola en una lista con un loop “for”. Cada código genético tiene un vector de ontologías asociado. Una vez obtenida esta lista tuvimos que generar un vector binario para definir nuestros genes seleccionados. El valor 1 se le da a los genes de nuestro interés y el 0 al resto en la lista de referencia (Ortutay Ortutay, 2017). En este caso los genes de interés son los que se encuentran en nuestro archivo de genes seleccionados **target-set**. Luego utilizamos la función **runTest** y **GenTable** para realizar y graficar nuestros resultados de Fisher test. Hicimos esta prueba para procesos biológicos y funciones metabólicas.

2) *Comparación de términos GO:* Como última parte de nuestro análisis realizamos una comparación entre los términos GO identificados para cada patología. Realizamos esto vía una comparación simple entre los elementos de cada columna, y también manualmente evaluando qué términos son similares o están relacionados.

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

##### A. Genes Diferencialmente Expresados

##### B. Análisis de enriquecimiento

En las figuras se pueden ver nuestros resultados del análisis de rutas metabólicas KEGG para cada patología. En el caso de diabetes tipo 1 encontramos que estas dos rutas forman parte de la respuesta inflamatoria del cuerpo (Strasser et al. 2017). En el caso de diabetes 2 encontramos una gran variedad de rutas metabólicas, muchas relacionadas a infecciones por patógenos o virus. Consideramos que esto puede haberse dado debido a la sobre activación del sistema inmune en la diabetes tipo 2. La ruta de diabetes tipo 2 y migración de leucocitos son las que consideramos más importantes. En cuanto a las rutas obtenidas para cáncer de páncreas, la ruta de biosíntesis de o-glicano es muy importante ya que las glicoproteínas con o-glicanos se encuentran en las secreciones y superficies celulares de células cancerígenas (Brockhausen, 1999). La ruta de señalización de hedgehog se conoce por estar relacionada al desarrollo embrionario; sin embargo, también está relacionada a la progresión de cánceres al regular la proliferación celular,

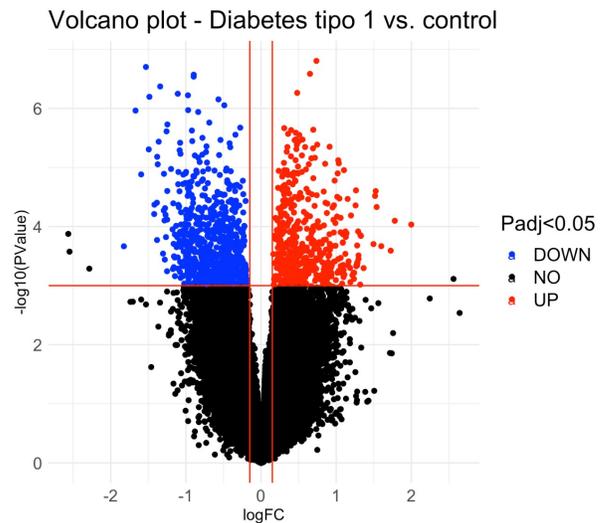


Fig. 3: Genes diferencialmente expresados en grupo de diabetes tipo 1 vs control

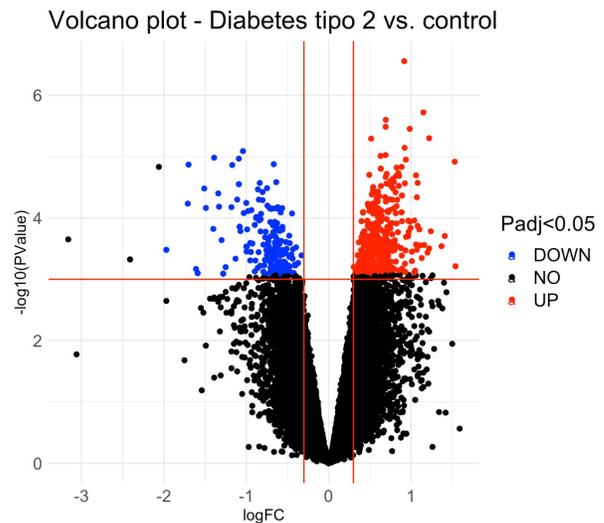


Fig. 4: Genes diferencialmente expresados en grupo de diabetes tipo 2 vs control

la metástasis y expansión de células madre cancerígenas (Sari, Phi, Jun et al. 2018).

En los pacientes que presentan diabetes tipo 1, se identificaron procesos biológicos con un gran conteo como la regulación negativa del proceso celular y la regulación negativa del proceso biológico; sin embargo, son procesos generales que no dan gran información. Por otro lado, se observa ciertos procesos que proveen más información de la diabetes tipo 1, como la respuesta a especies reactivas de oxígeno, la cual es una consecuencia de las complicaciones que ocasiona la diabetes por el alto nivel de glucosa en la sangre, debido a que aumenta la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) que activan la apoptosis en las células betas, productoras de insulina, y ello puede generar peores complicaciones diabéticas

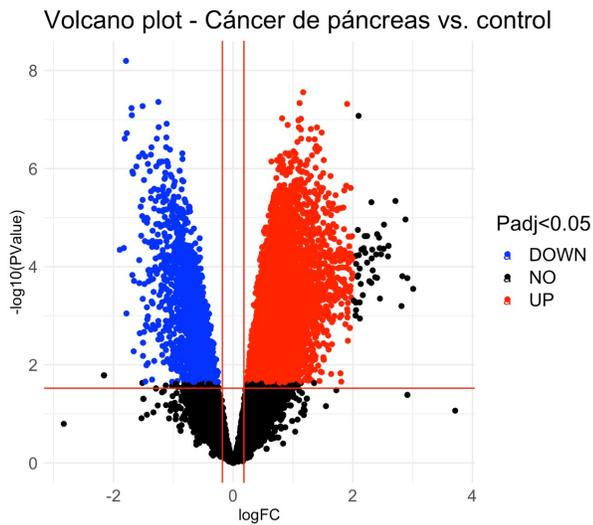


Fig. 5: Genes diferencialmente expresados en grupo de cáncer de páncreas vs control

| Pvalue <dbl> | OddsRatio <dbl> | ExpCount <dbl> | Count <int> | Size <int> | Term <chr>               |
|--------------|-----------------|----------------|-------------|------------|--------------------------|
| 0.003599785  | 11.739796       | 0.3213150      | 3           | 15         | Phenylalanine metabolism |
| 0.006904459  | 5.904639        | 0.7711559      | 4           | 36         | Tryptophan metabolism    |

Fig. 6: Resultados de análisis de enriquecimiento por rutas metabólicas KEGG para diabetes tipo 1

al perder estas células, como lesiones tisulares en el corazón o riñones. El incremento de la generación de ROS lleva a un estrés oxidativo, que también se encuentra en la gráfica como respuesta al estrés oxidativo, el cual es el exceso de los radicales libres en el cuerpo que serían los ROS, esto conduce finalmente a la muerte celular por varios mecanismos y, posiblemente, al daño tisular. Asimismo, se puede observar los términos de producción de citocinas de leucocitos mieloides y regulación positiva de la producción de citocinas de leucocitos mieloides involucrada en la respuesta inmune, la razón de ello es que en la diabetes ocurre una secreción de citocinas inflamatorias que son las culpables de que ocurra la apoptosis

| Count <int> | Size <int> | Term <chr>   |
|-------------|------------|--|
| 9           | 70         | Leishmaniasis  |
| 6           | 34         | African trypanosomiasis                                    |
| 12          | 126        | Osteoclast differentiation                                 |
| 8           | 67         | Epithelial cell signaling in Helicobacter pylori infection |
| 7           | 57         | NOD-like receptor signaling pathway                        |
| 6           | 46         | Type II diabetes mellitus                                  |
| 10          | 111        | Leukocyte transendothelial migration                       |

Fig. 7: Resultados de análisis de enriquecimiento por rutas metabólicas KEGG para diabetes tipo 2

| OddsRatio <dbl> | ExpCount <dbl> | Count <int> | Size <int> | Term <chr>                           |
|-----------------|----------------|-------------|------------|--------------------------------------|
| 2.731823        | 22.73540       | 32          | 42         | Other types of O-glycan biosynthesis |
| 2.318305        | 28.14859       | 38          | 52         | Hedgehog signaling pathway           |
| 2.403928        | 22.73540       | 31          | 42         | Fat digestion and absorption         |

Fig. 8: Resultados de análisis de enriquecimiento por rutas metabólicas KEGG para cáncer de páncreas

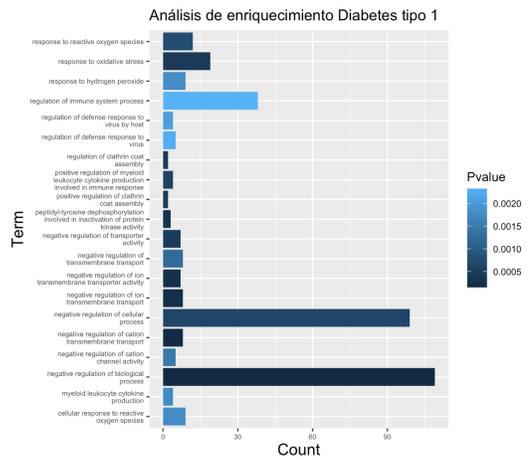


Fig. 9: Procesos biológicos para diabetes tipo 1 obtenidos con análisis hipergeométrico

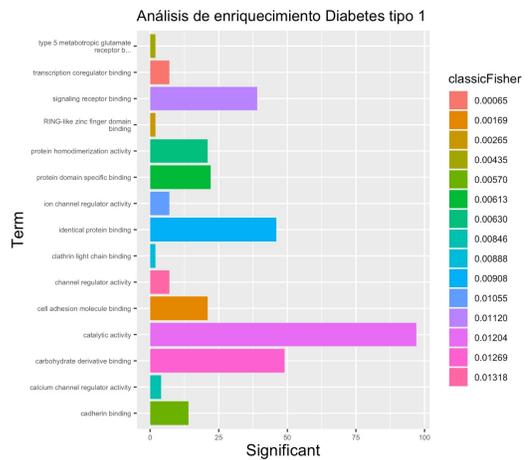


Fig. 10: Procesos biológicos para diabetes tipo 1 obtenidos con prueba de Fisher

en las células betas.(Volpe et al., 2018)

Los términos con mayor conteo, como la regulación del proceso metabólico de macromoléculas, regulación del proceso metabólico celular y regulación del proceso metabólico de los compuestos de nitrógeno resultan ser generales y no proveen información específica sobre la fisiopatología de la diabetes tipo 2. Sin embargo, se identificaron otros procesos biológicos con menor conteo relacionados a respuesta inmune. Por ejemplo, la respuesta celular a lipopolisacáridos resulta en la producción de citocinas proinflamatorias y otras moléculas como parte de una respuesta inflamatoria ante la detección de agentes patógenos. En pacientes con diabetes tipo 2, se ha reportado una baja sensibilidad ante lipopolisacáridos en comparación con los individuos sanos(Khondkaryan, Margaryan, Poghosya, et al., 2018). Esto resulta interesante, ya que se sabe que la obesidad es un factor de riesgo para el adenocarcinoma pancreático debido a que está acompañada de un incremento en los niveles de lipopolisacáridos. Se ha

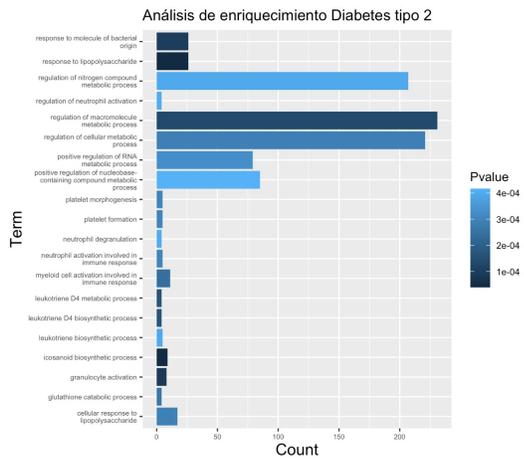


Fig. 11: Procesos biológicos para diabetes tipo 2 obtenidos con análisis hipergeométrico

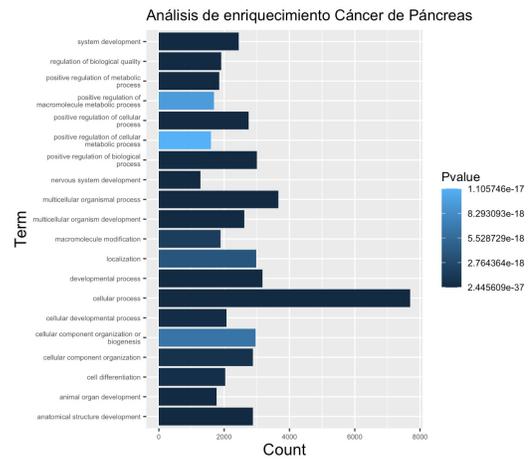


Fig. 13: Procesos biológicos para cáncer de páncreas obtenidos con análisis hipergeométrico

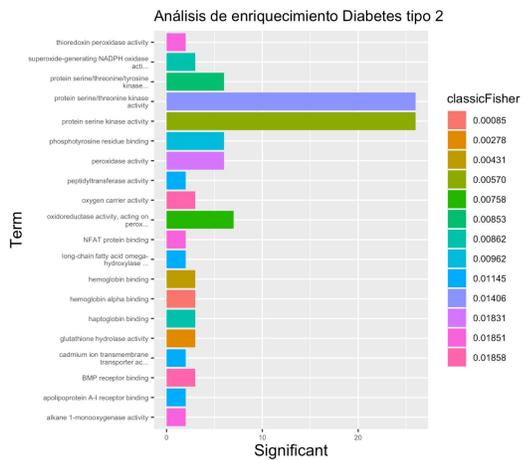


Fig. 12: Procesos biológicos para diabetes tipo 2 obtenidos con prueba de Fisher

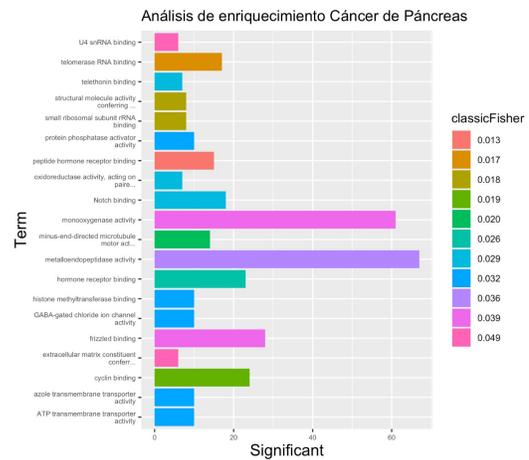


Fig. 14: Procesos biológicos para cáncer de páncreas obtenidos con prueba de Fisher

reportado que este incremento genera una expresión génica diferenciada en pacientes con adenocarcinoma pancreático que está relacionada a impulsores oncogénicos (Massoumi, et. al., 2021)

Otro proceso biológico identificado es la síntesis de eicosanoides, metabolitos lipídicos del Ácido araquidónico que tienen un rol importante en la disfunción y destrucción de las células beta y en la resistencia a insulina (Luo Wang, 2011). Además, los eucosanoides están implicados en varios mecanismos carcinogénicos incluyendo progresión del tumor y metastasis en cáncer pancreático (Knab, et. al., 2014).

Para el cáncer de páncreas, los procesos biológicos relacionados tuvieron un p-value bastante significativo. Los procesos biológicos identificados son bastante generales y no dan mucha información, sin embargo, tienen relación con la enfermedad. Por ejemplo, se identificó que el proceso biológico más relacionado es el del proceso celular, lo cual tiene sentido pues el cáncer es una enfermedad del ciclo celular. El segundo proceso con mayor conteo y con un p-value significativo fue

el de procesos de organismo multicelular, que si bien es general, trata sobre cualquier proceso que modula la frecuencia o velocidad de un proceso de organismo multicelular, los procesos pertinentes a la función de un organismo multicelular por encima del nivel celular; incluye los procesos integrados de tejidos y órganos.

Otro proceso que podría proveer información sobre el cáncer pancreático es el de diferenciación celular. Según Ting, X (2018), el adenocarcinoma de páncreas se divide en cuatro grados dependiendo de la diferenciación del tumor: altamente diferenciado (G1), moderadamente diferenciado (G2), poco diferenciado (G3) y no diferenciado (G4). Además, los pacientes con tumores poco diferenciados tienen peor pronóstico que aquellos con tumores bien diferenciados. Finalmente, otros procesos como la regulación positiva de los procesos biológicos o de los procesos metabólicos también tienen sentido, pues son cualquier proceso que activa o aumenta la frecuencia de los procesos biológicos. Por ejemplo, el control

de la expresión génica, modificación de proteínas, interacción con una proteína o sustrato, etc.

### C. Rutas Metabólicas

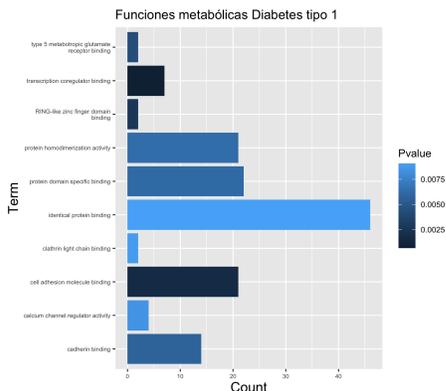


Fig. 15: Funciones metabólicas para diabetes tipo 1 obtenidas con análisis hipergeométrico

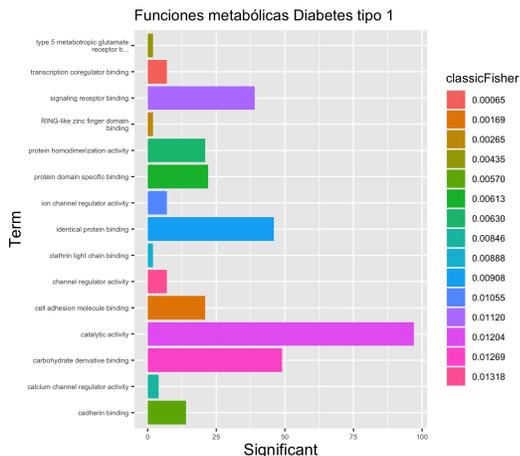


Fig. 16: Funciones metabólicas para diabetes tipo 1 obtenidas con prueba de Fisher

La actividad molecular de mayor significancia es la de actividad catalítica, lo que es el incremento en la velocidad de una reacción química causado por la presencia de un catalizador, que puede referirse a la actividad enzimática de la insulina. Sin embargo, también está presente la unión de moléculas de adhesión celular que aparece en la diabetes tipo 1 porque al haber destrucción de células beta productoras hay una inflamación en los islotes pancreáticos por células mononucleares inflamatorias, causantes de la desaparición de células betas, y ello conlleva a una lesión denominada insulinitis. La migración de estas células es regulada por moléculas de adhesión y su producción aumenta por las citocinas, que también son parte importante en el desarrollo de insulinitis (Toivonen, 2001). Del mismo modo, el enlace de cadherina, en donde cadherina es una proteína de adhesión celular la cual es la principal responsable de unir y localizar la adiponectina

que al aumentarse sus niveles tiende a aumentar el riesgo de nefropatía diabética, es el deterioro de la función renal (Anthony Nicolas et al., 2017).

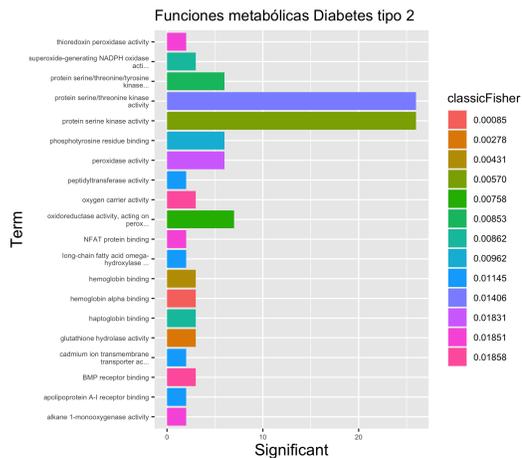


Fig. 17: Funciones metabólicas para diabetes tipo 2 obtenidas con análisis hipergeométrico

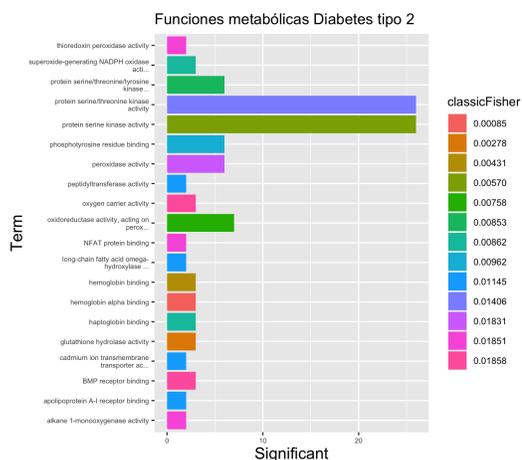


Fig. 18: Funciones metabólicas para diabetes tipo 2 obtenidas con prueba de Fisher

Entre las funciones moleculares más significativas identificadas en los perfiles de expresión de las muestras con diabetes tipo 2 se identificó la actividad de la proteína serina/treonina quinasa. Esta proteína presenta un rol regulador en la proliferación celular, apoptosis, diferenciación celular y desarrollo embrionario. Se ha reportado que actúa como un regulador negativo de la homeostasis de la insulina en ratones y que su supresión resulta en un aumento de la sensibilidad a la insulina (Amrutkar, et. al., 2015). Además, se ha reportado que existe una sobreexpresión de proteínas serina/treonina quinasas en el tejido pancreático de pacientes con cáncer en comparación con individuos sanos (Wang, et. al., 2015). Por otro lado, la actividad de la oxidoreductasa se ha asociado a la disfunción del hígado, resistencia a la insulina y complicaciones vasculares en pacientes con diabetes tipo 2. (Okuyama, et. al., 2021).

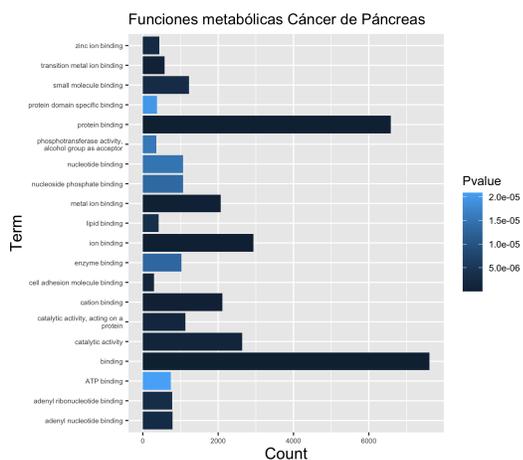


Fig. 19: Funciones metabólicas para cáncer de páncreas obtenidas con análisis hipergeométrico

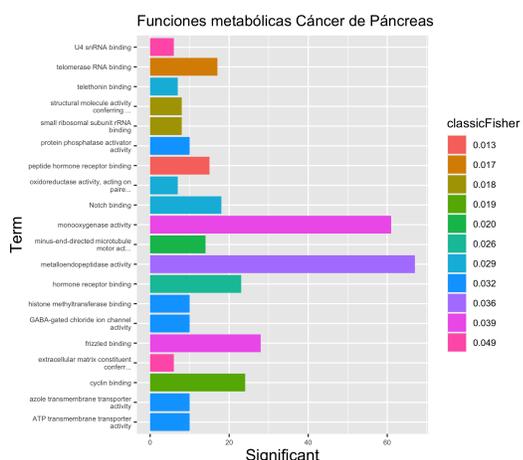


Fig. 20: Funciones metabólicas para cáncer de páncreas obtenidas con prueba de Fisher

Se tiene que la actividad de la metaloendopeptidasa (MME) y de la monooxigenasa tienen mayor conteo. Por un lado, el gen de MME codifica glicoproteínas transmembranales que degradan sustratos. En un estudio realizado por Li, M (2019) se encontró una relación entre la expresión de MME y diferentes tipos de cáncer. Por ejemplo, se determinó que en el cáncer colorrectal, en tumores endocrinos pancreáticos y melanomas, MME está sobreexpresado.

Por otro lado, las monooxigenasas son enzimas que incorporan un grupo hidroxilo (OH) en sustratos en muchas rutas metabólicas. Los citocromos P450 son una superfamilia de enzimas que contienen hemo como cofactor que funciona como monooxigenasas. De hecho, los citocromos P450 (CYP) son enzimas clave en la formación y el tratamiento del cáncer. Median la activación metabólica de numerosos pre carcinógenos y participan en la inactivación y activación de fármacos anticancerosos (Rodríguez-Antona, C., Ingelman-Sundberg, M., 2006). Asimismo, la monooxigenasa tiene un rol en la producción de eicosanoides, mediadores lipídicos que actúan

como moléculas de señalización. Estos son mediados por múltiples enzimas de tres ramas principales, siendo una de las ramas CYPs. Según Knab, L., et. al. (2014), los eicosanoides COX-2 y 5-LOX están sobre regulados en múltiples tipos de cáncer, incluyendo el cáncer pancreático.

La unión a los receptores de hormonas también tuvo un p-value significativo. Si bien es una función general, se relaciona con el cáncer. Por ejemplo, se ha encontrado que el receptor de estrógeno se expresa inconsistentemente en pacientes con cáncer pancreático (Chan, K., et. al, 2021). No obstante, las causas todavía son indefinidas. Otras funciones biológicas como la unión de ciclinas, también se relacionan con la enfermedad. Las ciclinas activan las quinasas dependientes de ciclina (CDK) y controlan los procesos del ciclo celular a través de la fosforilación. La desregulación de la actividad de las ciclinas en el ciclo celular a menudo se encuentra elevada en los tumores humanos y se asocia con la proliferación desenfrenada de células, una característica esencial del cáncer.

| GOBPID       | Term  | Count T2D | Count pan |
|--------------|---|-----------|-----------|
| 1 GO:0045893 | positive regulation of transcription, DNA-templated         | 72        | 824       |
| 2 GO:1903508 | positive regulation of nucleic acid-templated transcription | 72        | 824       |

Fig. 21: Términos GO identificados en los datos de diabetes tipo 2 y cáncer de páncreas

Al realizar la comparación de términos GO obtenidos en los análisis de enriquecimiento de las distintas patologías encontramos sólo dos términos en común entre diabetes tipo 2 y cáncer de páncreas. Estos fueron el término GO:0045893 y el término GO:1903508. Estos términos están ambos relacionados con la regulación positiva de la transcripción, proceso relacionado a la proliferación celular. No encontramos términos de funciones metabólicas entre estas dos patologías. Tampoco encontramos términos GO iguales al comparar diabetes tipo 1 con cáncer de páncreas, ni diabetes tipo 1 con diabetes tipo 2. No obstante, hemos identificado algunos procesos biológicos similares entre la diabetes tipo 1 y la diabetes tipo 2. Hay procesos relacionados a la regulación del sistema inmune. Esto tiene sentido considerando que la diabetes es una enfermedad autoinmune que promueve la inflamación. También identificamos algunos procesos relacionados con la activación de células mieloides. Los granulocitos y monocitos se consideran células mieloides. Estas células se concentran en zonas de inflamación o infección vía citoquinas, donde se activan para fagocitosis (Wang, Tang, Hou, et al., 2021). Finalmente, también encontramos términos relacionados a la producción de citoquinas. Las citoquinas regulan los procesos inflamatorios del cuerpo y se suelen tener niveles más elevados de producción en personas con diabetes debido a que esta enfermedad promueve la inflamación. A pesar de que no encontramos tantos términos similares como esperábamos, es importante mencionar que la diabetes tipo 1 no se considera un factor de riesgo para el cáncer de páncreas. La diabetes tipo 2 sí se considera un factor de riesgo pero solo en pacientes que han tenido la enfermedad por un tiempo extenso (mayor a 5 años); sin embargo, no se han identificado qué procesos

específicos son los relacionados. Se considera que procesos como resistencia a insulina, hiperglicemia, hiperinsulinemia e inflamación contribuyen al desarrollo de cáncer pancreático asociado a diabetes (Li, 2012).

#### V. LIMITACIONES

- **Tamaños de las bases de datos:** Una primera limitación son las diferencias en el tamaño y las características de las bases de datos que utilizamos. En el caso de las bases de datos tipo 1 y tipo 2 tuvimos 1283 y 667 genes respectivamente. En los genes seleccionados de la base de datos de cáncer de páncreas se tuvo 14676 genes significativos. Habían muchas más ontologías identificadas como significativas para los datos cáncer de páncreas que en diabetes tipo 1 y tipo 2 debido a tener más genes diferencialmente expresados, a pesar de tener un universo de genes menor. Esto también puede explicar por qué había tanta variedad de procesos biológicos y funciones metabólicas en nuestros resultados para cáncer, no eran tan específicos como los resultados de diabetes tipo 2.
- **Poblaciones de las muestras:** A pesar de que todos los datos que usamos provienen de células mononucleares de sangre periferal, provienen de distintos estudios con distintas poblaciones de muestra. Hay ciertas características que limitan el alcance de una comparación entre las bases de datos tal como la distribución de sexo, edad, demografía, tiempo de diagnóstico, condiciones adicionales a diabetes o cáncer, etc. Por ejemplo, para los datos de diabetes tipo 1 provienen de pacientes con menos de 6 meses desde el diagnóstico. Puede que para pacientes que han tenido la enfermedad por más tiempo hayan distintos genes diferencialmente expresados involucrados en otros procesos biológicos y funciones metabólicas.
- **Conversión del formato de los ID's:** Como mencionamos al inicio, tuvimos que realizar la conversión de los ID's de los datos de diabetes tipo 2 y cáncer. Hicimos esta conversión con el paquete biomart y a pesar de que sí pudimos hacer esta conversión, consideramos que nos quitó un grado de precisión. Había algunos códigos que no tenían un equivalente en EntrezGeneID por lo que tuvimos que eliminar esos datos, adicionalmente habían algunos códigos que tenían más de un equivalente en EntrezGene. Esto podría explicar que, por ejemplo, en diabetes tipo 1 y tipo 2 habían algunos términos muy similares pero el GO ID no coincidía.

#### VI. CONCLUSIONES

- Las gráficas del volcano plot permitieron identificar de forma visual los genes diferencialmente expresados (tanto up regulated como down regulated) en cada conjunto de datos.
- Se llevó a cabo un análisis de enriquecimiento para identificar los términos GO de procesos biológicos (PB) y funciones moleculares (FM) y la significancia cuya significancia fue medida con el análisis hipergeométrico y la prueba de Fisher.

- Se identificaron PBs y FMs relevantes para cada cada patología de forma individual. No se encontraron términos GO relacionados entre diabetes tipo 1 y cáncer. Sin embargo, se encontraron dos términos GO significativos entre diabetes tipo 2 y cáncer relacionados a la regulación positiva de la transcripción. Además, se identificó la respuesta a lipopolisacáridos y la biosíntesis de eicosanoides como procesos biológicos en diabetes tipo 2 que tienen relación con el desarrollo de cáncer pancreático.

#### VII. BIBLIOGRAFÍA

- Suresh, B. (2016). *Public Health Environment and Social Issues in India*. Serials Publications.
- Li D. (2012). Diabetes and pancreatic cancer. *Molecular carcinogenesis*, 51(1), 64–74. <https://doi.org/10.1002/mc.20771>
- Huang, H., Dong, X., Kang, M., Xu, B., Chen, Y., Zhang, B., Chen, J., Xie, Q. Wu, Y. (2010). Novel Blood Biomarkers of Pancreatic Cancer–Associated Diabetes Mellitus Identified by Peripheral Blood–Based Gene Expression Profiles. *The American journal of gastroenterology*, 105(7), 1661–1669. doi:10.1038/ajg.2010.32
- Santos, A. S., Cunha-Neto, E., Gonfinetti, N. V., Bertonha, F. B., Brochet, P., Bergon, A., Moreira-Filho, C. A., Chevillard, C., da Silva, M. (2022). Prevalence of Inflammatory Pathways Over Immuno-Tolerance in Peripheral Blood Mononuclear Cells of Recent-Onset Type 1 Diabetes. *Frontiers in immunology*, 12, 765264. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.765264>
- Sakai, Y., Honda, M., Matsui, S., Komori, O., Murayama, T., Fujiwara, T., et al. (2019). Development of novel diagnostic system for pancreas cancer including early stages measuring mRNA of whole blood cells. *Cancer Science*. doi:10.1111/cas.13971
- Strasser, B., Sperner-Unterweger, B., Fuchs, D., Gostner, J. M. (2017). Mechanisms of Inflammation-Associated Depression: Immune Influences on Tryptophan and Phenylalanine Metabolisms. *Current topics in behavioral neurosciences*, 31, 95–115.
- Khondkaryan L, Margaryan S, Poghosyan D, Manukyan G. Impaired Inflammatory Response to LPS in Type 2 Diabetes Mellitus. *Int J Inflamm*. 2018 Jan 14;2018:2157434. doi: 10.1155/2018/2157434. PMID: 29568481; PMCID: PMC5820544.
- Luo P, Wang MH. Eicosanoids, -cell function, and diabetes. *Prostaglandins Other Lipid Mediat*. 2011 Aug;95(1-4):1-10. doi: 10.1016/j.prostaglandins.2011.06.001. Epub 2011 Jul 3. PMID: 21757024; PMCID: PMC3144311.
- Xi, T., Zhang, G. (2018). Integrated analysis of tumor differentiation genes in pancreatic adenocarcinoma. *PLoS One*, 13(3), e0193427
- García-Reyes, B., Kretz, A., Ruff, J., Von Karstedt, S., Hillenbrand, A., Knippschild, U., Lemke, J., et al. (2018). The emerging role of cyclin-dependent kinases (CDKs) in pancreatic ductal adenocarcinoma. *International journal of molecular sciences*, 19(10), 3219.

- Li, M., Wang, L., Zhan, Y., Zeng, T., Zhang, X., Guan, X. Y., Li, Y. (2019). Membrane metalloendopeptidase (MME) suppresses metastasis of esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) by inhibiting FAK-RhoA signaling axis. *The American Journal of Pathology*, 189(7), 1462-1472.
- Rodriguez-Antona, C., Ingelman-Sundberg, M. (2006). Cytochrome P450 pharmacogenetics and cancer. *Oncogene*, 25(11), 1679-1691.
- Luo, Y., Liu, J. Y. (2020). Pleiotropic functions of cytochrome P450 monooxygenase-derived eicosanoids in cancer. *Frontiers in Pharmacology*, 11, 580897.
- Knab, L. M., Grippo, P. J., Bentrem, D. J. (2014). Involvement of eicosanoids in the pathogenesis of pancreatic cancer: the roles of cyclooxygenase-2 and 5-lipoxygenase. *World journal of gastroenterology: WJG*, 20(31), 10729.
- Chan, K. S., Ho, B. C. S., Shelat, V. G. (2021). A pilot study of estrogen receptor (ER) expression in pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC). *Translational Gastroenterology and Hepatology*, 6.
- Volpe, C., Villar-Delfino, P. H., Dos Anjos, P., Nogueira-Machado, J. A. (2018). Cellular death, reactive oxygen species (ROS) and diabetic complications. *Cell death disease*, 9(2), 119. <https://doi.org/10.1038/s41419-017-0135-z>
- Amrutkar, M., Cansby, E., Chursa, U., Nuñez-Durán, E., Chanclón, B., Ståhlman, M., Fridén, V., Mannerås-Holm, L., Wickman, A., Smith, U., Bäckhed, F., Borén, J., Howell, B. W., Mahlapuu, M. (2015). Genetic Disruption of Protein Kinase STK25 Ameliorates Metabolic Defects in a Diet-Induced Type 2 Diabetes Model. *Diabetes*, 64(8), 2791–2804. <https://doi.org/10.2337/db15-0060>
- Okuyama, T., Shirakawa, J., Nakamura, T., Murase, T., Miyashita, D., Inoue, R., Kyohara, M., Togashi, Y., Terauchi, Y. (2021). Association of the plasma xanthine oxidoreductase activity with the metabolic parameters and vascular complications in patients with type 2 diabetes. *Scientific Reports*, 11(1), 3768. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-83234-9>
- Toivonen, A., Kulmala, P., Savola, K. et al. (2001). Soluble Adhesion Molecules in Preclinical Type 1 Diabetes. *Pediatr Res* 49, 24–29. <https://doi.org/10.1203/00006450-200101000-00009>
- Anthony Nicolas, Kamel Mohammedi, Jean-Philippe Bastard, Soraya Fellahi, Naima Bellili-Muñoz, Ronan Rousel, Samy Hadjadj, Michel Marre, Gilberto Velho, Frédéric Fumeron, T-cadherin gene variants are associated with nephropathy in subjects with type 1 diabetes, *Nephrology Dialysis Transplantation*, Volume 32, Issue 12, December 2017, Pages 1987–1993, <https://doi.org/10.1093/ndt/gfx071>
- Wang, S., Tan, Q., Hou, Y., Dou, H. (2021). Emerging Roles of Myeloid-Derived Suppressor Cells in Diabetes. *Frontiers in pharmacology*, 12, 798320. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.798320>
- Brockhausen I. (1999). Pathways of O-glycan biosynthesis in cancer cells. *Biochimica et biophysica acta*, 1473,(1), 67–95. [https://doi.org/10.1016/s0304-4165\(99\)00170-1](https://doi.org/10.1016/s0304-4165(99)00170-1)
- Sari, I. N., Phi, L., Jun, N., Wijaya, Y. T., Lee, S., Kwon, H. Y. (2018). Hedgehog Signaling in Cancer: A Prospective Therapeutic Target for Eradicating Cancer Stem Cells. *Cells*, 7(11), 208. <https://doi.org/10.3390/cells7110208>
- Massoumi, R. L., Teper, Y., Ako, S., Ye, L., Wang, E., Hines, O. J., Eibl, G. (2021). Direct Effects of Lipopolysaccharide on Human Pancreatic Cancer Cells. *Pancreas*, 50(4), 524–528. <https://doi.org/10.1097/MPA.0000000000001790>
- Involvement of eicosanoids in the pathogenesis of pancreatic cancer: The roles of cyclooxygenase-2 and 5-lipoxygenase—PMC. (s/f). Recuperado el 4 de julio de 2022, de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4138453/>
- Wang, Q., Xu, D., Han, C., Tu, M., Du, Q., Zhang, J., Zhu, Y., Xu, L. (2015). Overexpression of serine/threonine-protein kinase-1 in pancreatic cancer tissue: Serine/threonine-protein kinase-1 knockdown increases the chemosensitivity of pancreatic cancer cells. *Molecular Medicine Reports*, 12(1), 475–481. <https://doi.org/10.3892/mmr.2015.3434>