



Universidad de la República - CSIC

Formulario de Informe final del Programa de Apoyo
a la Investigación Estudiantil
Edición 2014



DATOS DEL PROYECTO	
Título del Proyecto:	Expresión del antígeno Tn en cáncer de colon y pulmón, y su asociación con la agresividad tumoral.
Número ID del proyecto:	226
Área de conocimiento:	Inmunobiología-Cáncer.
Facultad o Servicio:	Facultad de Medicina-Servicio de Inmunobiología.
Nombre completo de los-as Integrantes del equipo:	Naibí Rodríguez Sosa; Josué Rodrigo Vidal Suárez; Ignacio Agustín Gutiérrez Martins; María Eugenia Cesio Severi.
Correo electrónico del/de la estudiante referente:	naibir@gmail.com
Nombre completo del/la docente orientador-a:	Eduardo Osinaga Pradere.
Correo electrónico del/de la docente orientador-a:	eosinaga@fmed.edu.uy

INFORME FINAL

(Desde ítem 1 a 7 la extensión máxima POR ÍTEM es de una carilla)

1) Transcriba los objetivos del proyecto tal cual figuraban en la solicitud financiada:

Objetivo general: Determinar la presencia del antígeno Tn en muestras humanas de cáncer de colon y pulmón, y su relación con la progresión del tumor.

Objetivos específicos:

- Cuantificar mediante inmunohistoquímica la presencia del antígeno Tn en el tumor primario
- Valorar mediante inmunohistoquímica la expresión de Tn en metástasis ganglionares y en otros órganos.
- Analizar la relación entre la expresión del antígeno Tn en el tumor primario y las metástasis.
- Evaluar la evolución de los pacientes en relación a la expresión de Tn en el tumor.

2) Enumere y describa las principales actividades desarrolladas en el marco de su proyecto.

- Revisión y búsqueda bibliográfica a fin de fundamentar la relevancia de la investigación a llevar a cabo, así como los aspectos metodológicos específicos;
- Optimización de la técnica de inmunohistoquímica utilizando controles apropiados para cada anticuerpo primario utilizado. Se realizó la optimización de la técnica comparando resultados inter-investigador, y se efectuó la identificación de los controles positivos necesarios para los cuatro anticuerpos monoclonales seleccionados;
- Búsqueda de muestras de tejidos adecuados de pacientes con cáncer de pulmón. Originalmente, el proyecto presentado aspiraba a evaluar tejidos tumorales tanto de pulmón como de colon, provenientes de pacientes seleccionados del Hospital Maciel. Dada la imposibilidad de obtener los consentimientos informados de un alto número de pacientes en tan poco tiempo, se optó por la compra de arrays de tejido tumoral. El array contiene muestras de 30 pacientes con adenocarcinoma de pulmón. Para cada paciente hay una muestra de tejido maligno, otra de tejido normal adyacente, y metástasis ganglionar, tal como lo requieren los objetivos planteados, a fin de poder comparar resultados.
- Evaluación de la expresión del antígeno Tn en los tejidos seleccionados. Para esta fase contamos con la invaluable colaboración de la Dra. Nora Berois y el Dr. Daniel Mazal. Se evaluó de forma cualitativa la expresión del Ag Tn en cada testigo positivo, y para cada array se comparó la expresión del Ag Tn con cada Ac primario en correlación con dichos testigos positivos (también de forma cualitativa), y a su vez con cada metástasis ganglionar y tejido sano.
- Evaluación estadística y análisis de resultados. Dado que no pudo utilizarse tejido

tumoral proveniente de pacientes en seguimiento clínico prolongado, la hipótesis de si la expresión del Ag Tn está vinculada a una mayor agresividad tumoral se centró en cuantificar mediante inmunohistoquímica la presencia del Ag Tn en los diferentes tumores primarios, comparando la expresión de Tn con respecto a si existen diferencias con y las metástasis ganglionares.

- Elaboración del informe científico y póster de difusión.

- 3) **Indique si se han efectuado todas las etapas planteadas en el cronograma de ejecución del proyecto. En caso de que su cronograma haya sufrido alteraciones o no se haya podido cumplir con todas las etapas definidas en el cronograma, aclare los motivos de tal situación.**

Fueron cumplidas todas las etapas estipuladas en el cronograma. Debido a dificultades en el desarrollo de la investigación dichas etapas no pudieron llevarse a cabo en los plazos establecidos, obligando a requerir la extensión del plazo de entrega. Estas dificultades serán descritas en el punto correspondiente.

- 4) **Indique los principales resultados obtenidos. Aclare hasta qué punto coinciden - o no - con los resultados esperados por parte del equipo.**

Se analizaron un total de 116 muestras de cáncer de pulmón provenientes de 29 pacientes, contando para el análisis con muestras de tejido del tumor primario maligno, tejido normal adyacente y metástasis ganglionares. Con respecto a datos de los pacientes conocemos edad y género; en cuanto a los datos del tumor contamos con el grado de diferenciación tumoral; no contamos con datos de seguimiento clínico. La edad varió desde 32 años hasta 78 (media 59,3); el grado de diferenciación tumoral estuvo entre GII y GIII, con un único caso GI, y ninguno GIV. Del total de casos 13 correspondieron a mujeres y 16 a hombres.

De los 4 anticuerpos utilizados para el reconocimiento de Tn, se puede concluir que el de mayor sensibilidad fue 6E11 el cual marcó el 100% de los tumores primarios, seguido por 83D4 (75.8%), 9A7 (75.8%) y por último 15G9 que únicamente marcó un 3.45%. En cuanto al comportamiento de las metástasis ganglionares se puede observar que 83D4 marcó en el 82.75% de los casos, 6E11 en el 79.3%, 9A7 en el 68.9% y por último 15G9 en el 20.69%.

Respecto a la intensidad de la señal se observa que únicamente 83D4 tiene una mayor intensidad de marcado en la metástasis ganglionar respecto al tumor primario, no así para los otros AcMo, en los cuales no se observa una tendencia clara en ningún sentido. Cabe destacar que para el AcMo 15G9, del total de 7 muestras positivas, 6 fueron de metástasis y 1 de tumor primario. Valorándolo en conjunto con el grado de diferenciación tumoral se observa una leve tendencia a una mayor intensidad en la señal en los tumores

grado 3 comparativamente con los grado 2 para todos los anticuerpos excepto 15G9. En este último se observó señal únicamente en tumores y metástasis G2.

Al observar el comportamiento en función del género, vemos que para todos los anticuerpos en las metástasis hubo mayor número de positivos en el hombre respecto a las mismas en la mujer. No se observa el mismo comportamiento en el tumor primario. Para 83D4 se observaron más casos positivos en las mujeres, en 6E11 el total de casos fue positivo para ambos sexos, y en 9A7 hubo más casos positivos en los hombres. Si analizamos la intensidad de la señal vemos que para todos los Ac es superior en los hombres.

Se analizó también el comportamiento en función de la edad no observándose diferencias significativas en cuanto al número de casos positivos y la intensidad de la señal.

Estos resultados están acorde a nuestras expectativas dado que vemos una alta expresión del antígeno Tn en los tejidos tumorales analizados. Así mismo se vio que para 83D4 y 15G9 la expresión es mayor en las metástasis ganglionares lo cual es acorde con las hipótesis planteadas. No podemos concluir que la mayor expresión de este antígeno en las metástasis ganglionares esté asociada a una peor evolución clínica dado que no contamos con datos de seguimiento de estos pacientes. El hecho de que el antígeno se exprese en mayor medida en las metástasis ganglionares respecto al tumor primario sugiere que las células tumorales que expresan este antígeno serían las que tienen un mayor potencial invasivo. No obstante no podemos afirmar que esto se correlacione con una peor evolución clínica. La posibilidad de evaluar esta asociación quedará para futuras instancias de investigación.

- 5) **Indique si los resultados parciales o finales del proyecto fueron difundidos a través de alguna actividad (charlas, seminarios, talleres, prensa, edición de materiales impresos, etc.).**

Los resultados no han sido difundidos aún, no obstante, el plan de difusión incluye la eventual presentación de los resultados obtenidos en congresos y conferencias, y la elaboración de un artículo científico a ser publicado en revistas referentes en el tema.

- 6) **En caso de haber enfrentado dificultades en el desarrollo del proyecto de investigación, realice una breve descripción de las mismas.**

El kit de inmunohistoquímica que estaba siendo utilizado expiró, lo que indefectiblemente obligó a una nueva puesta a punto de la técnica de laboratorio. A su vez, uno de los anticuerpos primarios utilizado para la técnica perdió actividad, lo que implicó tener que generar una nueva producción del mismo. Lo antedicho hizo necesario realizar nuevas pruebas de laboratorio, a fin de optimizar la técnica una vez más. Una vez superados dichos obstáculos se retomó normalmente la actividad, y teniendo en

cuenta el tiempo que insumió el procesamiento de las muestras clínicas, el análisis de los datos, y la elaboración de un informe final y el poster, es que debimos solicitar la prórroga del máximo tiempo estipulado por CSIC y a su vez excluir en esta fase las muestras de pacientes con cáncer de colon. Se optó por investigar sobre adenocarcinoma de pulmón dado que tres de los cuatro Ac utilizados nunca habían sido testeado en este tipo de tumor, por lo que primó la originalidad y la producción de nuevos conocimientos a la hora de tener que optar.

- 7) En base a su experiencia de trabajo en equipo en el marco de este Programa, le solicitamos que realice sugerencias o comentarios para ser tomados en cuenta en futuras ediciones del mismo.**

Para el grupo de trabajo fue una experiencia muy gratificante, y una gran oportunidad para continuar desarrollando las habilidades de laboratorio. Creemos que en términos generales el programa es una muy buena oportunidad para estudiantes que presentan inquietudes científicas, facilitando el acceso a los insumos necesarios que de otra forma serían inaccesibles. A su vez es bueno que el programa ofrezca cierta flexibilidad a la hora de poner el proyecto en marcha.

Creemos que para futuras ediciones sería bueno poder contar con mayor presupuesto para las actividades de laboratorio ya que representan un gran costo en materiales y se deben repetir varias pruebas para optimizar las técnicas.

- 8) Resumen publicable de no más de 250 palabras**

El resumen debe contener la siguiente información:

Título: Expresión del antígeno Tn en cáncer de colon y pulmón, y su asociación con la agresividad tumoral

Servicio: Facultad de Medicina, Departamento de Inmunobiología

Nombre de los integrantes del equipo: Naibí Rodríguez, Ignacio Gutierrez, María Eugenia Cesio, Josué Vidal

Nombre del docente orientador: Prof. Dr. Eduardo Osinaga

Resumen publicable:

En el presente trabajo se estudió la presencia del antígeno Tn (GalNac-O-Ser/Thr) en adenocarcinoma de pulmón para evaluar si la presencia de Tn se correlaciona con las metástasis ganglionares y asociarlo a la agresividad tumoral. El estudio fue realizado mediante inmunohistoquímica para lo cual se utilizaron 4 anticuerpos monoclonales que reconocen distintos motivos de Tn: 83D4, 9A7, 6E11 y 15G9. Se observó una gran expresión del antígeno Tn en la gran mayoría de las piezas estudiadas, con una tendencia a mayor marcado en número e intensidad en las metástasis, asimismo se evidenció algunas diferencias en el perfil de marcado entre los diferentes anticuerpos. Nuestros resultados sugieren que algunos subtipos de Tn, que difieren en glicosilación

de serina o de treonina, se asociarían con mayor agresividad al adenocarcinoma de pulmón, abriendo nuevos horizontes en las investigaciones de Tn como biomarcador de utilidad clínica en pacientes con cáncer.

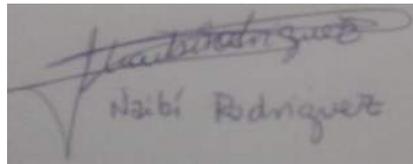
9) En la siguiente tabla ingrese la información solicitada en relación a los **equipos y la bibliografía adquiridos con fondos del PAIE**. Recuerde que debe entregar todos los ítems adquiridos en los dos rubros antes mencionados, para que éstos formen parte del acervo de su institución y puedan ser utilizados por equipos financiados en posteriores ediciones de este programa.

EQUIPOS	
cantidad	ítem - descripción

BIBLIOGRAFÍA	
cantidad	autor(es), título, editorial, año

Desde el 1/12/2015 y hasta el 15/12/2015 se deberá entregar a los Ayudantes I+D de los Servicios lo siguiente:

- **Un CD con el informe final en formato .odt o .pdf. Y con el póster en su versión digital en formato .jpg o .pdf**
- **Equipos y bibliografía adquiridos con fondos del PAIE (declarados en la lista conformada en el ítem 8 de este documento)**

A rectangular box containing a handwritten signature in blue ink. The signature is cursive and appears to read 'Nazbi Rodríguez'. Below the signature, the name 'Nazbi Rodríguez' is printed in a simple, sans-serif font.

.....
FIRMA DEL ESTUDIANTE RESPONSABLE

Se solicita al **docente orientador** que brinde una **opinión general acerca del desempeño de su equipo de estudiantes** durante el transcurso de la investigación y que evalúe en forma breve los **resultados** expuestos a través de este informe y el contenido de su **resumen publicable**. (máx 200 palabras)

Comentarios del docente orientador:

Se solicita al docente orientador que brinde una opinión general acerca del desempeño de su equipo de estudiantes durante el transcurso de la investigación y que evalúe en forma breve los resultados expuestos a través de este informe y el contenido de su resumen publicable. (máx 200 palabras)

Comentarios del docente orientador:

Conozco al equipo de estudiantes desde que realizaron la monografía correspondiente al curso de Metodología Científica II, cuando fui tutor de la misma. En esa instancia ya pude apreciar los altos valores de todos ellos. El proyecto propuesto al PAIE involucró el desafío de desarrollar actividades experimentales para las que no tenían experiencia previa, en un contexto de investigación de alto interés para nuestro grupo de trabajo. Quiero expresar mi plena satisfacción por como desarrollaron las diferentes actividades y etapas del proyecto. Mostraron alto compromiso y dedicación, con rápida capacidad de incorporar las nuevas herramientas, siendo creativos, reflexivos y honestos, con gran respeto por el entorno de trabajo. Los resultados que obtuvieron son originales en el área de biomarcadores con potencial interés pronóstico en pacientes con cáncer de pulmón, lo que plantea la posibilidad que estos hallazgos sean parte de un trabajo científico a completarse. En este contexto, es muy posible que nuestro vínculo con este equipo de estudiantes tenga nuevas instancias en el futuro próximo.



.....
FIRMA DEL DOCENTE ORIENTADOR

