

# CARRERA DEL INVESTIGADOR CIENTÍFICO Y TECNOLÓGICO

## Informe Científico<sup>1</sup>

PERIODO <sup>2</sup>: 2016-2018

### 1. DATOS PERSONALES

*APELLIDO: Croce*

*NOMBRES: María Virginia*

*Dirección Particular: Calle:*

*Dirección electrónica (donde desea recibir información, que no sea "Hotmail"):  
mariaviriniacroce@gmail.com*

### 2. TEMA DE INVESTIGACION

Estudio de la formación de nichos ganglionares premetastásicos y metastásicos en tumores epiteliales malignos

**PALABRAS CLAVE (HASTA 3)** carcinomas metástasis ganglios

### 3. DATOS RELATIVOS A INGRESO Y PROMOCIONES EN LA CARRERA

*INGRESO: Categoría: Investigador Adjunto Fecha: 1987*

*ACTUAL: Categoría: Investigador Principal desde fecha: 2009*

### 4. INSTITUCION DONDE DESARROLLA LA TAREA

*Universidad y/o Centro: UNLP*

*Facultad: Facultad de Ciencias Médicas*

*Departamento: CINIBA Centro de Investigaciones Inmunológicas Básicas y Aplicadas*

*Cátedra:*

*Otros:*

*Dirección: Calle: 60 y 128 N°:*

*Localidad: La Plata CP: 1900 Tel: 4241596 int 342*

*Cargo que ocupa: Directora del CINIBA/Profesora adjunta*

### 5. DIRECTOR DE TRABAJOS (En el caso que corresponda)

*Apellido y Nombres:*

*Dirección Particular: Calle: N°:*

*Localidad: CP: Tel:*

*Dirección electrónica:*

<sup>1</sup> Art. 11; Inc. "e"; Ley 9688 (Carrera del Investigador Científico y Tecnológico).

<sup>2</sup> El informe deberá referenciar a años calendarios completos. Ej.: en el año 2017 deberá informar sobre la actividad del período 1°-01-2015 al 31-12-2016, para las presentaciones bianuales. Para las presentaciones anuales será el año calendario anterior.

.....  
Firma del Director (si corresponde)

.....  
Firma del Investigador

## **6. RESUMEN DE LA LABOR QUE DESARROLLA**

*Descripción para el repositorio institucional. Máximo 150 palabras.*

La diseminación tumoral ocurre por la invasión de los capilares venosos y linfáticos con una primera estación en los ganglios linfáticos y posteriormente en órganos distantes. Durante este período se estudió la expresión de moléculas de adhesión implicadas en la diseminación tumoral en tumores primarios y ganglios linfáticos de cáncer de mama y colorrectal. Se estudió la presencia de vasos sanguíneos y linfáticos de neoformación observándose la invasión de células tumorales. Se analizó la preparación de nichos metastásicos mediante la determinación de la enzima indoleamine-2,3-dioxygenase (IDO), molécula inmunomoduladora, en carcinomas mamarios primarios y ganglios linfáticos pareados y se estudió el perfil de células linfoides en los ganglios comprometidos. Asimismo, se analizó la expresión de antígenos asociados a MUC1 y su valor pronóstico en pacientes con tumores epiteliales malignos de cabeza y cuello. Se continuó con el estudio poblacional de factores de riesgo, incidencia y prevención del cáncer de mama y el desarrollo de modelos experimentales.

## **7. EXPOSICION SINTETICA DE LA LABOR DESARROLLADA EN EL PERIODO.**

*Debe exponerse, en no más de una página, la orientación impuesta a los trabajos, técnicas y métodos empleados, principales resultados obtenidos y dificultades encontradas en el plano científico y material. Si corresponde, explicita la importancia de sus trabajos con relación a los intereses de la Provincia.*

En el mundo, mueren ocho millones de personas por año debido al cáncer, constituyendo la segunda causa de muerte por enfermedad. La diseminación a distancia de las células malignas está involucrada en la mortalidad y, generalmente, se produce por la invasión de los capilares venosos y linfáticos con una primera estación en los ganglios linfáticos y posteriormente a la circulación general y a órganos distantes. Tanto el desarrollo de un tumor primario como el de los sitios secundarios o metastásicos dependerían de las características genéticas y antigénicas del primero así como de la capacidad de responder inmunológicamente frente al tumor que tiene cada paciente en particular. En las primeras etapas, las células tumorales e inmunes que infiltran el tumor pueden promover su crecimiento preparando los nichos premetastásicos; asimismo, los ganglios linfáticos son sitios de privilegio para la presentación de antígenos a las células T y para la aparición de la tolerancia periférica. La presencia de células tumorales en los ganglios se considera para realizar la estadificación tumoral, con implicancias en el pronóstico y sobrevida del paciente y, frecuentemente, determina el tratamiento. Se ha sugerido que el inicio de un nicho premetastásico en un ganglio linfático estaría dado por la liberación por parte del tumor primario de citoquinas inmunosupresoras tales como IL-10, TGF- $\beta$ , GMF-CSF, IDO, expresión de distintas moléculas de adhesión celular, citoquinas y sus receptores, ligandos y las moléculas implicadas en las vías de señalización tales como WNT, EGFR, entre otros. Por otra parte, la accesibilidad a los vasos sanguíneos y linfáticos también influye en el paso de las células metastásicas.

Durante este período, se estudiaron muestras de pacientes con cáncer de mama y de colon; se analizaron tumores primarios y ganglios linfáticos pareados de pacientes con o sin metástasis a distancia. Se realizó la detección de moléculas implicadas en la adhesión celular tales como mucinas (MUC1 y MUC2) así como moléculas relacionadas con diseminación tumoral (sialil Lewis x). Se observó una expresión diferencial de los antígenos detectados. Por otra parte, se analizó mediante marcación con el anticuerpo CD31 la presencia de vasos sanguíneos de neoformación y con el D2-40, la de vasos linfáticos; asimismo, mediante inmunomarcación y observación con microscopía óptica, se estudió la presencia de células tumorales invadiendo los vasos (Luna et al., manuscrito en preparación).

Se considera que los tumores primarios desde su comienzo contribuyen en la preparación de nichos premetastásicos y metastásicos gracias a la liberación de

citoquinas y moléculas inmunomoduladoras tales como la enzima indoleamine-2,3-dioxygenase (IDO). Se determinó la presencia de esta enzima por diversas técnicas en cortes histológicos de carcinomas primarios y ganglios linfáticos en forma pareada. Asimismo, se analizó el perfil de células linfoides en los ganglios comprometidos (Isla Larrain M et al, 2018).

Por otra parte se analizó la expresión de antígenos asociados a MUC1 y su valor pronóstico en pacientes con tumores epiteliales malignos de cabeza y cuello. Se encontró que el antígeno Lewis x se encuentra más expresado en tumores más diferenciados y su presencia es marcador de mejor pronóstico en dichos pacientes (Rabassa et al, 2017).

Continuando con la búsqueda de modelos experimentales para el estudio de las mucinas, se analizó su expresión (Ferretti et al, 2016) así como de la de glicanos (Ferretti et al, 2018) en epitelios normales de rata adulta y embrionaria de distintos órganos.

Finalmente, se realizó un estudio acerca de los factores de riesgo y el diagnóstico precoz del cáncer de mama en mujeres de bajos y medianos recursos en la ciudad de La Plata. Se realizó una encuesta de 45 ítems a 739 mujeres (Cermignani et al, 2018).

#### Referencias

Zaorsky NG, Churilla TM, Egleston BL, Fisher SG, Ridge JA, Horwitz EM, Meyer JE. Causes of death among cancer patients. *Annals of Oncology*, 28 :400-407, 2017, <https://doi.org/10.1093/annonc/mdw604>.

Wong SY y Hynes RO. Lymphatic or Hematogenous Dissemination: How Does a Metastatic Tumor Cell Decide? *Cell Cycle*; 5: 812–817, 2006.

Trinchera M, Aronica A, Dall'Olio F. Selectin Ligands Sialyl-Lewis a and Sialyl-Lewis x in Gastrointestinal Cancers. *Biology* 6, 16; 2017 doi:10.3390/biology6010016.

Seidl M, Bader M, Vaihinger A, Wellner UF et al. Morphology of Immunomodulation in Breast Cancer Tumor Draining Lymph Nodes Depends on Stage and Intrinsic Subtype. *SClenTIFIC REpOrTS* | 8:5321, 2018 | DOI:10.1038/s41598-018-23629-3

Shi M, Chen D, Yang D, Liu X. CCL21-CCR7 promotes the lymph node metastasis of esophageal squamous cell carcinoma by up-regulating MUC1. Shi et al. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research* 2015 34:149 DOI 10.1186/s13046-015-0268-9

## 8. TRABAJOS DE INVESTIGACION REALIZADOS O PUBLICADOS EN ESTE PERIODO.

**8.1 PUBLICACIONES.** *Debe hacer referencia exclusivamente a aquellas publicaciones en las que haya hecho explícita mención de su calidad de Investigador de la CIC (Ver instructivo para la publicación de trabajos, comunicaciones, tesis, etc.). Toda publicación donde no figure dicha mención no debe ser adjuntada porque no será tomada en consideración. A cada publicación, asignarle un número e indicar el nombre de los autores en el mismo orden que figuran en ella, lugar donde fue publicada, volumen, página y año. A continuación, transcribir el resumen (abstract) tal como aparece en la publicación. La copia en papel de cada publicación se presentará por separado. Para cada publicación, el investigador deberá, además, aclarar el tipo o grado de participación que le cupo en el desarrollo del trabajo y, para aquellas en las que considere que ha hecho una contribución de importancia, deberá escribir una breve justificación. Asimismo, para cada publicación deberá indicar si se encuentra depositada en el repositorio institucional CIC-Digital.*

En revistas científicas

Publicados:

- Ferretti V, Segal-Eiras A, Barbeito C, Croce MV. Temporal and spatial expression of Muc2 and Muc5ac mucins during rat respiratory and digestive tracts development. *Res Vet Sci*. 2016 Feb;104:136-45. doi: 10.1016/j.rvsc.2015.12.012. Epub 2015 Dec 23.
- Rabassa ME, Pereira CA, Pereyra L, Segal-Eiras A, Abba MC: Lewis x Antigen is Associated to Head and Neck Squamous Cell Carcinoma Survival. *Pathol Oncol Res*. 2017 Jul 5. doi: 10.1007/s12253-017-0269-4.

**8.2 TRABAJOS EN PRENSA Y/O ACEPTADOS PARA SU PUBLICACIÓN.** *Debe hacer referencia exclusivamente a aquellos trabajos en los que haya hecho explícita mención de su calidad de Investigador de la CIC (Ver instructivo para la publicación de trabajos, comunicaciones, tesis, etc.). Todo trabajo donde no figure dicha mención no debe ser adjuntado porque no será tomado en consideración. A cada trabajo, asignarle un número e indicar el nombre de los autores en el mismo orden en que figurarán en la publicación y el lugar donde será publicado. A continuación, transcribir el resumen (abstract) tal como aparecerá en la publicación. La versión completa de cada trabajo se presentará en papel, por separado, juntamente con la constancia de aceptación. En cada trabajo, el investigador deberá aclarar el tipo o grado de participación que le cupo en el desarrollo del mismo y, para aquellos en los que considere que ha hecho una contribución de importancia, deberá escribir una breve justificación.*

- Croce MV, Cermignani L, Rabassa ME, Segal-Eiras A: Socioeconomic factors and health insurance status highly influence breast cancer mammographic screening and breast cancer prevalence in an Argentine city. *The Breast Journal*, 2018.
- Canzoneri R, Rabassa ME, Gurruchaga A, Ferretti V, Palma S, Isla Larrain M, Croce MV, Lacunza E, Abba MC. Alternative splicing variant of RHBDD2 is associated with cellstress response and breast cáncer progression. *Oncol Reports* 2018

**8.3 TRABAJOS ENVIADOS Y AUN NO ACEPTADOS PARA SU PUBLICACION.** *Incluir un resumen de no más de 200 palabras de cada trabajo, indicando el lugar al que han sido enviados. Adjuntar copia de los manuscritos.*

- Ferretti V, Isla Larrain M, Barbeito C, Abba M, Segal-Eiras A, Croce MV. Epithelial rat embryonic development exhibits differential glycan expression according to organ localization. *Biology*, 2017.
- Isla Larrain M, Rabassa ME, Cavalli F, Canzoneri R, Barbera A, Cretón A, Segal-Eiras A, Croce MV. Indoleamine 2,3-dioxygenase, tumour infiltrating lymphocytes and Foxp3 expression are differentially associated to breast cancer malignant parameters. *Cancer Immunol Immunother*, 2018.
- Croce MV, Rabassa ME, Segal-Eiras A. MUC1 and carbohydrate associated antigens in HNSCC: our experience. *Journal of Immunological Sciences*, 2018.

**8.4 TRABAJOS TERMINADOS Y AUN NO ENVIADOS PARA SU PUBLICACION.** *Incluir un resumen de no más de 200 palabras de cada trabajo.*

- Luna A, Abba M, Isla Larrain M, Rabassa ME, Cabaleiro P, Zwenger A, Canzoneri R, Segal-Eiras A, Croce MV. Breast cancer cutaneous metastases are associated to uMUC1 and sialyl Lewis x and to highly malignant primary tumors.

**8.5 COMUNICACIONES.** *Incluir únicamente un listado y acompañar copia en papel de cada una. (No consignar los trabajos anotados en los subtítulos anteriores).*

- Croce MV, Isla-Larrain M, Rabassa M. Barbera A, Cretón A, Cavalli F, Segal-Eiras A. Indoleamine 2,3-dioxygenase, tumour infiltrating lymphocytes, and Foxp3 expression are differentially associated to breast cancer malignant features. 58th Annual Meeting of the Italian Society of Cancerology. Verona, 5-8 Setiembre, 2016

**8.6 INFORMES Y MEMORIAS TÉCNICAS.** *Incluir un listado y acompañar copia en papel de cada uno o referencia de la labor y del lugar de consulta cuando corresponda. Indicar en cada caso si se encuentra depositado en el repositorio institucional CIC-Digital.*

## 9. TRABAJOS DE DESARROLLO DE TECNOLOGÍAS.

**9.1 DESARROLLOS TECNOLÓGICOS.** *Describir la naturaleza de la innovación o mejora alcanzada, si se trata de una innovación a nivel regional, nacional o internacional, con qué financiamiento se ha realizado, su utilización potencial o actual por parte de empresas u otras entidades, incidencia en el mercado y niveles de facturación del respectivo producto o servicio y toda otra información conducente a demostrar la relevancia de la tecnología desarrollada.*

**9.2 PATENTES O EQUIVALENTES** *Indicar los datos del registro, si han sido vendidos o licenciados los derechos y todo otro dato que permita evaluar su relevancia.*

**9.3 PROYECTOS POTENCIALMENTE TRANSFERIBLES, NO CONCLUIDOS Y QUE ESTAN EN DESARROLLO.** *Describir objetivos perseguidos, breve reseña de la labor realizada y grado de avance. Detallar instituciones, empresas y/o organismos solicitantes.*

**9.4 OTRAS ACTIVIDADES TECNOLÓGICAS CUYOS RESULTADOS NO SEAN PUBLICABLES** *(desarrollo de equipamientos, montajes de laboratorios, etc.).*

**9.5** *Sugiera nombres (e informe las direcciones) de las personas de la actividad privada y/o pública que conocen su trabajo y que pueden opinar sobre la relevancia y el impacto económico y/o social de la/s tecnología/s desarrollada/s.*

**10. SERVICIOS TECNOLÓGICOS.** *Indicar qué tipo de servicios ha realizado, el grado de complejidad de los mismos, qué porcentaje aproximado de su tiempo le demandan y los montos de facturación.*

**11. PUBLICACIONES Y DESARROLLOS EN:**

**11.1 DOCENCIA**

**11.2 DIVULGACIÓN**

En cada caso indicar si se encuentran depositados en el repositorio institucional CIC-Digital.

**12. DIRECCION DE BECARIOS Y/O INVESTIGADORES.** *Indicar nombres de los dirigidos, Instituciones de dependencia, temas de investigación y períodos.*

Dra. Marina Isla Larrain

Investigadora Tema: Expresión de moléculas inmunomoduladoras en células tumorales y linfocitos de pacientes con cáncer de mama.

Dr. Martín Rabassa

Investigador. Tema: Análisis de mucinas y antígenos asociados al cáncer de cabeza y cuello: estudio de la respuesta inmune inducida en el portador.

**13. DIRECCION DE TESIS.** *Indicar nombres de los dirigidos y temas desarrollados y aclarar si las tesis son de maestría o de doctorado y si están en ejecución o han sido defendidas; en este último caso citar fecha.*

Méd. Amalia Luna

Tesis de doctorado; en ejecución

Título: Metástasis cutáneas de cáncer de mama

Méd. Rocío F. Rafaelli

Tesis de doctorado; en ejecución

Título: Caracterización de tumores malignos cutáneos por espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier en el cáncer de piel

**14. PARTICIPACION EN REUNIONES CIENTIFICAS.** *Indicar la denominación, lugar y fecha de realización, tipo de participación que le cupo, títulos de los trabajos o comunicaciones presentadas y autores de los mismos.*

Croce MV, Isla-Larrain M, Rabassa M, Barbera A, Cretón A, Cavalli F, Segal-Eiras A. Indoleamine 2,3-dioxygenase, tumour infiltrating lymphocytes, and foxp3 expression are differentially associated to breast cancer malignant features. 58th Annual Meeting of the Italian Society of Cancerology. Verona, 5-8 Setiembre, 2016

**15. CURSOS DE PERFECCIONAMIENTO, VIAJES DE ESTUDIO, ETC.** *Señalar características del curso o motivo del viaje, período, instituciones visitadas, etc.*

**16. SUBSIDIOS RECIBIDOS EN EL PERIODO.** *Indicar institución otorgante, fines de los mismos y montos recibidos.*

CIC/PBA automático 2016, 2017

M185 Proyecto de Incentivos 2016, 2017

**17. OTRAS FUENTES DE FINANCIAMIENTO.** *Describir la naturaleza de los contratos con empresas y/o organismos públicos.*

**18. DISTINCIONES O PREMIOS OBTENIDOS EN EL PERIODO.**

**19. ACTUACION EN ORGANISMOS DE PLANEAMIENTO, PROMOCION O EJECUCION CIENTIFICA Y TECNOLÓGICA.** *Indicar las principales gestiones realizadas durante el período y porcentaje aproximado de su tiempo que ha utilizado.*

**20. TAREAS DOCENTES DESARROLLADAS EN EL PERIODO.** *Indicar el porcentaje aproximado de su tiempo que le han demandado.*

Profesor Adjunto ordinario tiempo completo (9 horas semanales dedicadas a la docencia). Cátedra de Embriología e Histología "B", Facultad de Ciencias Médicas, UNLP.

**21. OTROS ELEMENTOS DE JUICIO NO CONTEMPLADOS EN LOS TITULOS ANTERIORES.** *Bajo este punto se indicará todo lo que se considere de interés para la evaluación de la tarea cumplida en el período.*

Jurado de tesis y proyectos de la Universidad de Cape Town, Sudáfrica

Evaluador de CONEAU.

Evaluador externo de SECYT, UNLP, UNER, Universidad del Litoral, Universidad de Rosario.

Evaluador de trabajos científicos de diferentes revistas internacionales de cáncer

Jurado de concursos, Cátedra B de Citología, Histología y Embriología, Fac Cs Médicas, UNLP

**22. TITULO, PLAN DE TRABAJO A REALIZAR EN EL PROXIMO PERIODO.** *Desarrollar en no más de 3 páginas. Si corresponde, explicita la importancia de sus trabajos con relación a los intereses de la Provincia.*

Título: DISEMINACIÓN METASTÁSICA TEMPRANA EN TUMORES EPITELIALES MALIGNOS

**INTRODUCCIÓN**

Las células tumorales siguen una serie de pasos para llegar a órganos distantes y, eventualmente, dar metástasis. Cuando las células del tumor primario entran en la circulación general se denominan células tumorales circulantes (CTC) y cuando llegan a órganos a distancia pasan a ser células tumorales diseminadas (DTC). Sin embargo, las lesiones metastásicas pueden no ser sintomáticas hasta años o décadas después de la extracción del tumor primario (latencia tumoral o cancer dormancy), lo cual sugiere que las DTC no son competentes inmediatamente; actualmente, se las considera como el origen de las metástasis. Hasta la actualidad, no se ha realizado el análisis molecular de las DTC suficiente para predecir si el paciente tendrá un largo período de remisión o sufrirá recaída. Se ha sugerido que, además de las alteraciones genéticas y epigenéticas de las células tumorales mismas, el microambiente del tumor primario prepararía el sitio de metástasis para ser receptivo para las DTC. Asimismo, se ha sugerido que el microambiente del órgano blanco puede ejercer control sobre el crecimiento de las DTC o sobre metástasis no detectables debido a la regulación ejercida por señales del huésped y de la arquitectura tisular. Dentro de los sitios de metástasis se hallan los ganglios linfáticos así como órganos distantes del tumor primario. Hay evidencia de que las metástasis ganglionares estarían precedidas por la liberación por parte del tumor primario de citoquinas inmunosupresoras tales como IL-10, TGF- $\beta$ , GMF-CSF,IDO, expresión de distintas moléculas de adhesión celular, citoquinas y sus receptores, ligandos y las moléculas implicadas en las vías de señalización tales como WNT, EGFR, entre otros. Por otra parte, la linfangiogénesis tumoral podría estar implicada pudiendo llegar a constituir un factor indicador de colonización ganglionar. En el caso de otros órganos, estarían implicadas señales propias tales como TGF $\beta$ 2, GAS5, BMP4/7, LIF o bien DTC provenientes de lesiones muy tempranas pre-modeladas como es el caso del cáncer de mama Her2+ y PgR, Wnt, RANKL.

En el presente proyecto se propone el análisis de marcadores implicados en la diseminación tumoral de carcinomas que dan metástasis ganglionares y a órganos a distancia (cáncer de mama y colorrectal) y aquellos que invaden localmente (cáncer de cabeza y cuello) mediante el análisis de los tumores primarios, las DTC y sitios metastásicos.

**OBJETIVOS**

1. Determinar subpoblaciones celulares tumorales con capacidad de colonizar los ganglios linfáticos y órganos a distancia mediante marcadores moleculares inmunológicos y genéticos en cáncer de colon, mama y de cabeza y cuello.
2. Analizar el perfil inmunológico del microambiente tumoral, ganglionar y de sitios metastásicos y relacionarlo con la invasión tumoral a los sitios metastásicos.
3. Analizar la relación de los marcadores tumorales expresados por las células tumorales diseminadas (DTC) con la colonización metastásica.
4. Comparar dichos perfiles entre tumores que dan metástasis a distancia (cáncer de mama y colorrectal) y de aquellos principalmente invasores (cabeza y cuello).
5. Relacionar el perfil de expresión de los marcadores con las características histo-patológicas del tumor primario y de las metástasis ganglionares y de órganos a distancia.
6. Detectar marcadores tumorales en DTC y establecer su relación con el tumor y estadio tumoral, características histo-patológicas tumorales y células del infiltrado linfocitario.
7. Relacionar el perfil de expresión de los marcadores con la respuesta al tratamiento y la evolución de la enfermedad.

Hipótesis: El tipo de diseminación tumoral (invasión/metástasis) así como el sitio de metástasis están relacionados con la expresión diferencial de marcadores tumorales, con la liberación de células tumorales y con la liberación de moléculas inmunomoduladoras que atraen células inmunosupresoras que, a su vez responden frente a ellas.

#### DISEÑO Y MÉTODOS

##### Muestras y Análisis estadístico.

Se estudiarán muestras de tacos de parafina de tumores epiteliales primarios invasores (cáncer colorrectal, de mama y de cabeza y cuello). En este proyecto se propone incluir tumores de cabeza y cuello que son principalmente invasores a diferencia de las localizaciones mamaria y colorrectal que dan metástasis a distancia. Todas las localizaciones tumorales consideradas comprometen los ganglios.

Se evaluará la expresión genética y antigénica en el tumor primario, en los ganglios linfáticos comprometidos y en metástasis a distancia. Se estudiarán 30 muestras de tacos de parafina con tumores epiteliales primarios invasores de cada localización y muestras de los distintos sitios metastásicos. Controles: se incluirán 20 tacos de mucosa colorrectal normal, de glándula mamaria normal y de mucosa oral normal.

En todos los casos se analizarán los factores de riesgo y pronóstico, las características clínico-patológicas, tratamiento, sobrevida y evolución de la enfermedad.

##### Análisis de la expresión antigénica en tumores epiteliales primarios y metástasis ganglionares y de órganos a distancia

Se empleará inmunohistoquímica estándar. Se determinarán los siguientes antígenos: MUC1, MUC2, Romboides, Lewis x, Lewis y, sialil Lewis x, Tn y TF. Asimismo, los tumores mamarios se clasificarán por el estudio de la expresión de ER, PR y Her2-neu. En los tumores mamarios se determinará Ki-67, p53, citoquerinas 7, 5/6, 8, 18, 14,  $\beta$ -catenina, E-cadherina, CD133 y CD44 (stem cells).

##### Análisis de las poblaciones del microambiente tumoral y de sitios metastásicos

Mediante inmunohistoquímica estándar, tanto en los tumores primarios como en los ganglios linfáticos, se determinará la presencia de linfocitos CD8 y CD4, Treg (Foxp3+) y de memoria (CD45+), la expresión de moléculas inmunomoduladoras (enzima inmunodioxigenasa, IDO). Asimismo se analizará la presencia de macrófagos, leucocitos neutrófilos y células dendríticas. Se obtendrán exosomas del plasma y se analizará en ellos la expresión de mucinas y antígenos carbohidratos asociados e IDO.

En los cortes de inmunohistoquímica se considerará: reacción en célula tumoral versus normal, intensidad, patrón celular: citoplasmático, membrana plasmática y mixto, apical y no apical.

##### Análisis de expresión génica en cáncer de mama y colon en relación a subtipos tumorales y de cabeza cuello según su localización y su relación con la capacidad metastásica

Se continuará con el análisis del estudio de los perfiles de expresión génica de cáncer colorrectal se realizará mediante la plataforma Affymetrix HG U133 Plus2 (GPL570) que incluye datos de 866 muestras de cáncer colorrectal y se agregarán datos de 20 muestras normales de la misma localización. Este análisis se relacionará con el sistema de clasificación clínico-patológica para esta localización tumoral (clasificación de Dukes y TNM). La clasificación de los carcinomas infiltrantes primarios de mama y sus metástasis ganglionares, pulmonares, óseas y cutáneas se realizará mediante el estudio de los perfiles de expresión génica de 53 transcriptos mediante la plataforma OpenArray Real-Time PCR (Life Technologies, EEUU). El análisis de los tumores de cabeza y cuello se realizará según la plataforma identificada. El análisis por RT-PCR cuantitativa del grupo de genes de cáncer de mama permite determinar cada subtipo tumoral con un nivel de exactitud de 93% de concordancia en comparación a los sistemas basados en microarreglos de cDNA. Mediante el empleo de estos sistemas se estudiará cada uno de los tumores primarios y sus metástasis. Es importante destacar

que esta metodología que se purificará ARN total a partir de muestras fijadas (formol PBS10%) e incluidas en parafina con alto grado de pureza ( $A_{260}/A_{280} = 1,8-2,0$ ; 200-600ng/ul). Posteriormente los ARN totales serán re-purificados en el sistema NucleoSpin® RNA Clean-up (Macherey-Nagel, Alemania) respectivamente. Las muestras serán retrotranscriptas con el sistema Superscript III® (Invitrogen, EEUU). Los ADNc serán cuantificados y utilizados para las reacciones de PCR cuantitativa mediante el empleo de los equipos OpenArray® AccuFill System (para la carga de las muestras en el array) y OpenArray® Real-Time PCR (par las reacciones de termociclado y lectura de las mismas). Posteriormente los datos serán preprocesados y analizados estadísticamente con el programa MultiExperiment Viewer (MeV 4.7) (<http://www.tm4.org/mev/>)

Separación y Cuantificación de células tumorales diseminadas mediante el kit CELLection™ Epithelial Enrich, Dynal A.S. (Oslo, Norway)

Los aspirados de médula ósea (AMO) obtenidos se colocarán en tubos heparinizados se colocarán en tubos heparinizados.y se empleará el kit de perlas magnetizadas cubiertas por un anticuerpo IgG de ratón anti-EpCAM (epithelial cell adhesion molecule) (Ber-EP4) expresadas por la mayoría de los tejidos epiteliales normales y neoplásicos.

## UTILIDAD/APLICACIÓN DE LOS RESULTADOS ESPERADOS

El análisis de los factores involucrados en la diseminación tumoral contribuiría a la prevención temprana de la enfermedad metastásica, principal causa de muerte por cáncer.

## REFERENCIAS

Aguirre-Ghiso J, Sosa MS. Emerging topics on disseminated cancer cell dormancy and the paradigm of metastasis. *Annual Review of Cancer Biology* 2018; 2:377-393.

Al-Hajj M, Wicha MS, Benito-Hernandez A et al. Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100:3963.

Croce MV, Isla-Larrain M, Demichelis et al. Tissue and serum MUC1 detection in breast cancer patients. *Breast Cancer Res & Treat* 2003; 81:195.

Croce MV, Isla-Larrain M, Tur R, Rabassa ME, Segal-Eiras A. Antigenic differences between metastatic cells in bone marrow and primary tumours and the anti-MUC1 humoral immune response induced in breast cancer patients. *Clin Exp Metastasis*. 2004;21:139-47

Fan CW, Chen T, Shang YN et al. Cancer-initiating cells derived from human rectal adenocarcinoma tissues carry mesenchymal phenotypes and resist drug therapies. *Cell Death Dis* 2013 4, e828.

Ghajar CM. Metastasis prevention by targeting the dormant niche. *Nat Rev Cancer*2015; 15:238-247.

Gendler S. MUC1, the renaissance molecule. *J Mamm Gland Biol & Neoplasia* 2001;6:339-353.

Lacunza E, Canzoneri R, Rabassa ME, Zwenger A, Segal-Eiras A, Croce MV, Abba MC. RHBDD2: a 5-Fluorouracil responsive gene overexpressed in the advanced stages of colorectal cancer. *Tumor Biology*, 2012;33:2393-9.

Linde N, Fluegen G, Aguirre-Ghiso J. The relationship between dormant cells and microenvironment. *Adv. Cancer Res*. 2016; 132:45-71.

Pereira E, Jones D, Jung K, Padera T. The lymph node microenvironment and its role in the progression of metastatic cáncer. *Semin Cell Dev Biol*. 2015; 38: 98–105.

Rabassa ME, Pereyra A, Pereyra L, Segal-Eiras A, Abba MC, Croce MV. Lewis x antigen is associated to head and neck squamous cell carcinoma survival. *Pathol Oncol Res*. 2017 Jul 5. doi: 10.1007/s12253-017-0269-4.

Rollins-Raval M, Chivukula M, Tseng G et al. An immunohistochemical panel to differentiate metastatic breast cancer to skin from primary sweat gland carcinomas and a review of the literature. *Arch Pathol Lab Med* 2011;135: 975-983.

Sorlie T, Perou CM, Tibshirani R et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. Proc Natl Acad Sci USA 2001; 98:10869-10874.

Wolf DM, Lenburg ME, Yau C et al. Gene co-expression modules as clinically relevant hallmarks of breast cancer diversity. PLoS One. 2014;9(2):e88309.

---

### **Condiciones de la presentación:**

- A. El Informe Científico deberá presentarse dentro de una carpeta, con la documentación abrochada y en cuyo rótulo figure el Apellido y Nombre del Investigador, la que deberá incluir:
- Una copia en papel A-4 (puntos 1 al 22).
  - Las copias de publicaciones y toda otra documentación respaldatoria, en otra carpeta o caja, en cuyo rótulo se consignará el apellido y nombres del investigador y la leyenda "Informe Científico Período .....".
  - Informe del Director de tareas (en los casos que corresponda), en sobre cerrado.
- B. Envío por correo electrónico:
- Se deberá remitir por correo electrónico a la siguiente dirección: [infinvest@cic.gba.gob.ar](mailto:infinvest@cic.gba.gob.ar) (puntos 1 al 22), en formato .doc zipeado, configurado para papel A-4 y libre de virus.
  - En el mismo correo electrónico referido en el punto a), se deberá incluir como un segundo documento un currículum resumido (no más de dos páginas A4), consignando apellido y nombres, disciplina de investigación, trabajos publicados en el período informado (con las direcciones de Internet de las respectivas revistas) y un resumen del proyecto de investigación en no más de 250 palabras, incluyendo palabras clave.
- C. Sistema SIBIPA:
- Se deberá peticionar el informe en la modalidad on line, desde el sitio web de la CIC, sistema SIBIPA (ver instructivo).

---

**Nota:** El Investigador que desee ser considerado a los fines de una promoción, deberá solicitarlo en el formulario correspondiente, en los períodos que se establezcan en los cronogramas anuales.