

Universidad del Bío-Bío
Facultad de Ciencias Básicas
Bachillerato en Ciencias



MONOGRAFÍA PARA OPTAR AL GRADO DE
BACHILLER EN CIENCIAS

ROL DE A_{2A}R EN LA ANGIOGENESIS Y EL CRECIMIENTO DEL MELANOMA

Autores: Nadya Vásquez Manosalva

Sofía Leiva Chandía

Profesor guía: Andrés Rodríguez Morales.

Chillán, 2016

I. ÍNDICE

I. Índice.....	2
II. Introducción.....	3
III. Resumen.....	4
IV. Marco teórico.....	5
1. Característica del melanoma.....	5
2. Características del ratón KO.....	5
3. Características del ratón WT.....	5
V. Materiales y métodos.....	6
1. Melanoma.....	6
2. Caliper.....	6
3. Guantes de látex.....	6
4. Alcohol.....	6
5. Bitácora.....	6
VI. Bitácora.....	7
VII. Resultados y discusión.....	9

II. INTRODUCCIÓN

El Melanoma humano es muy poco común, pero es el más peligroso de todos los tipos de cáncer de piel. La incidencia de éste Melanoma se ha duplicado desde 1973.

Una vez en la fase metástasis de éste que se desarrolla casi siempre es fatal. Se han intentado aproximaciones, incluyendo terapias químicas y biológicas, pero sin un resultado significativo.

La naturaleza agresiva del melanoma está relacionada a anomalías en la secreción de factores de crecimiento, citosinas y expresión en receptores, los cuales finalmente influyen sobre el proceso de angiogénesis y crecimiento tumoral. La angiogénesis tumoral es un proceso dinámico y caótico, la cual se evalúa tradicionalmente mediante la expresión de marcadores endoteliales o de proteínas pro-angiogénicas en la microvasculatura, estas permiten identificar áreas de hipervascularización en el tumor.

En el trabajo de investigación realizado se estudió el cómo se comportaba el crecimiento de nuevos vasos sanguíneos, en dos especies, provocados por el crecimiento tumoral y ver si éste es capaz de causar metástasis en el individuo a examinar, siendo éste considerado uno de las más agresivos.

III. RESUMEN

Se trabajó con animales vivos con cuidado y supervisor de un profesor, se siguió las instrucciones dadas, se cuidó y vigilo a los animales.

Durante los primeros días no se tomó registro por recomendación del docente, puesto que el tumos no crecería lo suficiente en tan poco tiempo, se anotó todos los cambios observados en la zona rasurada de cada animal y otros cambios como fue el pelaje, comportamiento.

Todo fue hecho con las herramientas dadas, ninguna extra, con un seguimiento diario tratando de siempre realizar la labor a la misma hora. Éste trabajo se realizó hasta el día 17 después de inyectado el tumor.

IV. MARCO TEÓRICO

1. Características del melanoma

El melanoma es el menos común de cáncer de piel, pero es uno de los más peligrosos dado a que avanzado una vez desarrollado en su fase de metástasis es casi siempre fatal.

2. Características del ratón KO

Es un ratón modificado por ingeniería genética para que uno o más genes estén inactivados mediante una técnica llamada bloqueo de genes.

3. Características del ratón WT

Es un ratón que no presenta modificaciones genéticas, prevalecen las características de un ratón salvaje.

V. MATERIALES Y MÉTODOS

- 1. Melanoma:** tipo de cáncer de piel inyectado a cada especie de ratones.
- 2. Caliper:** Utilizado para tener mayor precisión al medir los tumores.
- 3. Guantes de látex:** Utilizado para el manejo de los animales.
- 4. Alcohol:** Usado para desinfectar la mesa de estudio y el caliper.
- 5. Bitácora:** Registro diario del avance y estado de los melanomas en los ratones tanto KO como WT.

VI. BITÁCORA

- Ratones KO – El procedimiento de medición y revisión de melanomas comenzó al quinto día desde que se inyectaron las células a los ratones (15 de julio).

Lunes 20 – Día 5: Primer día de observación se puede notar que los melanomas aún no se presentan en la zona inyectada de los ratones (4).

Martes 21 – Día 6: Los 4 ratones KO siguen sin presentar anomalías, por ende sólo nos preocupamos de mantener el aseo de su jaula y dar alimento y agua.

Miércoles 22 – Día 7: Siguen sin presentar observaciones.

Jueves 23 – Día 8: Tres de los cuatro ratones siguen sin presentar observaciones, el ratón N°1 presenta una pequeña mancha abdominal.

Viernes 24 – Día 9: Uno de los cuatro ratones no presentó observaciones.

- ✓ Ratón 1: Presenta pequeña mancha abdominal
- ✓ Ratón2: Presenta mancha abdominal (no distinguible)
- ✓ Ratón 3: Presenta pequeña mancha abdominal
- ✓ Ratón 4: Sin observaciones

Sábado 25 – Día 10: Tres de los cuatro ratones presentan mancha abdominal medible con el Caliper.

- ✓ Ratón 1: Melanoma de medidas 0,1 tanto horizontal como vertical.
- ✓ Ratón 2: Melanoma de medidas 0,1 tanto horizontal como vertical.
- ✓ Ratón 3: Melanoma de medidas 0,01 tanto horizontal como vertical
- ✓ Ratón 4: Presenta una dureza en zona abdominal que es sólo distinguible al tacto.

Domingo 26 – Día 11: Una vez presente de forma notable los melanomas la tarea diaria es medir y notar si se presentan cambios en el pelaje o actitud de los ratones frente al procedimiento.

- ✓ Ratón 1: Se observa pequeña caída del pelaje en la “nuca” del ratón. Melanoma de medidas 0,1 vertical y 0,15 horizontal
- ✓ Ratón 2: Melanoma de medidas 0,5 vertical y 0,1 horizontal.
- ✓ Ratón 3: Melanoma de medidas 0,1 vertical y 0,21 horizontal.
- ✓ Ratón 4: Sin observaciones nuevas.

Lunes 27 – Día 12:

- ✓ Ratón 1: Melanoma de medidas 0,2 horizontal y 0,15 vertical.
- ✓ Ratón 2: Melanoma de medidas 0,7 horizontal y 0,12 vertical.
- ✓ Ratón 3: Melanoma de medidas 0,2 horizontal y 0,1 vertical.
- ✓ Ratón 4: Sin observaciones nuevas.

Martes 28 – Día 13:

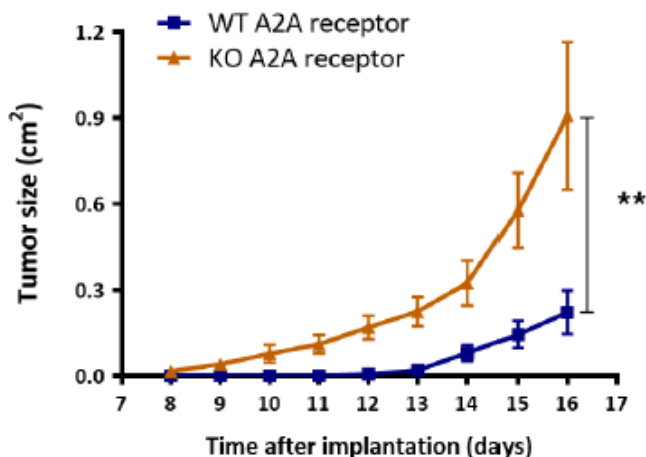
- ✓ Ratón 1: Melanoma de medidas 0,3 horizontal y 0,15 vertical.
- ✓ Ratón 2: Melanoma de medidas 0,9 horizontal y 0,15 vertical.
- ✓ Ratón 3: Melanoma de medidas 0,3 horizontal y 0,2 vertical.
- ✓ Ratón 4: Sin observaciones nuevas.

Lunes 01/Agosto – Día 17:

- ✓ Ratón 1:
- ✓ Ratón 2: Melanoma de medidas 1cm horizontal y 0,7 vertical
- ✓ Ratón 3: Melanoma de medidas 0,5 horizontal y 0,4 vertical
- ✓ Ratón 4: Melanoma de medidas 0,5 horizontal y 0,9 vertical

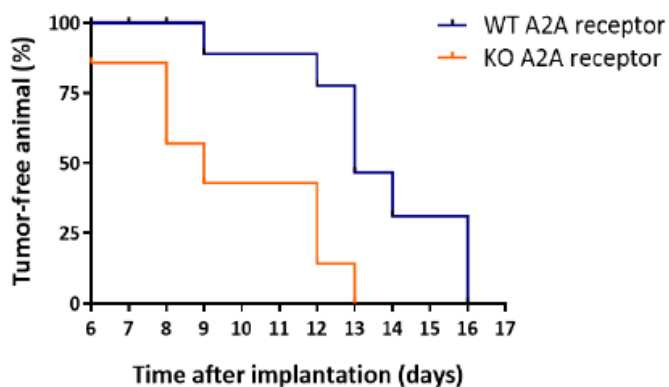
VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Nuestra hipótesis es si la ausencia de $A_{2A}R$ aumenta el desarrollo del melanoma.



En la figura 1 se observa el crecimiento del tumor del melanoma en $A_{2A}R$ de WT y Knockout. Cada punto representa la SEM media de las mediciones diarias del tamaño del tumor

Como se puede apreciar en la figura 1 se observa el tamaño del tumor en ambas especies, en la especie KO se aprecia un poco más de tres veces con respecto a la especie WT y los ratones KO muestran un crecimiento mucho más rápido.



En la figura 2 se aprecia el porcentaje del tumor en cada momento. La supervivencia media $A_{2A}R$ WT y KO fue de 13 y 9 días, respectivamente.

En la figura 2 se puede apreciar que la supervivencia del ratón WT es mucho mayor que la del ratón KO, ya en el día 6 ya el ratón KO tiene signos del tumor 25% menos que el ratón WT.

Teniendo éstos análisis en mano podemos concluir que nuestra hipótesis es correcta, en observación en vivo y gráficamente se puede observar la importancia de la $A_{2A}R$ para el desarrollo del melanoma humano, con la presencia de ésta adenosina también se observa que el melanoma no es tan agresivo.