

INVESTIGACIÓN BÁSICA. PILAR DE LA INVESTIGACIÓN CLÍNICA.

Caracterización Histoquímica de las Criptas Cervicales Uterinas Humanas

(1) *García-Molina F.*, (2) *Seco-Rovira V.*, (2) *Martínez-Hedrnández, J.*, (2) *Beltrán-Frutos E.*, (2) *Ferrer C.* (3) *Orduña, A.* (3) *Lillo Berenguer, M.* (3) *Castaño-Belda, M.D.*, (4) *Torroba-Carón, M.A.* (2) *Pastor L.M.*

1Departamento Anatomía Patológica. Hospital Universitario Morales Meseguer. Murcia. 2Department of Cell Biology and Histology, Medical School, IMIB, Regional Campus of International Excellence "Campus Mare Nostrum", University of Murcia, Spain.

3Hospital General Universitario de Elche. Alicante.

4Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca.

¿Y PARA QUE SE PUEDE USAR ESTO?

NO SABEMOS, LO QUE HACEMOS ES INVESTIGACION BASICA

QUE BONITO, NOSOTROS NOS MATAMOS EMPUJANDO PIEDRAS Y ARRASTRANDO ANIMALES SALVAJES, MIENTRAS LOS SEÑORES SE ENTRETienen HACIENDO COSAS QUE NO SIRVEN PARA NADA



Investigación básica:

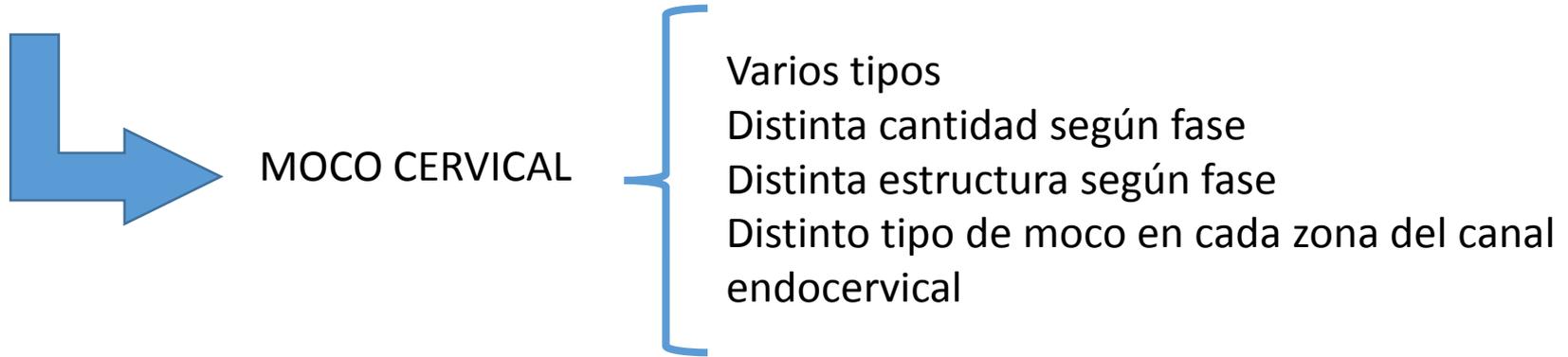
- También recibe el nombre de *investigación pura*, *teórica* o *dogmática*.
- Se caracteriza porque parte de un *marco teórico* y permanece en él; la finalidad radica en formular nuevas teorías o modificar las existentes, en incrementar los conocimientos científicos o filosóficos, pero sin contrastarlos con ningún aspecto práctico.

Básica y Aplicada

- La *investigación aplicada*, guarda íntima relación con la básica, pues depende de los descubrimientos y avances de la investigación básica y se enriquece con ellos, pero se caracteriza por su interés en la aplicación, utilización y consecuencias prácticas de los conocimientos.
- La investigación aplicada busca el conocer para hacer, para actuar, para construir, para modificar.

ANTECEDENTES

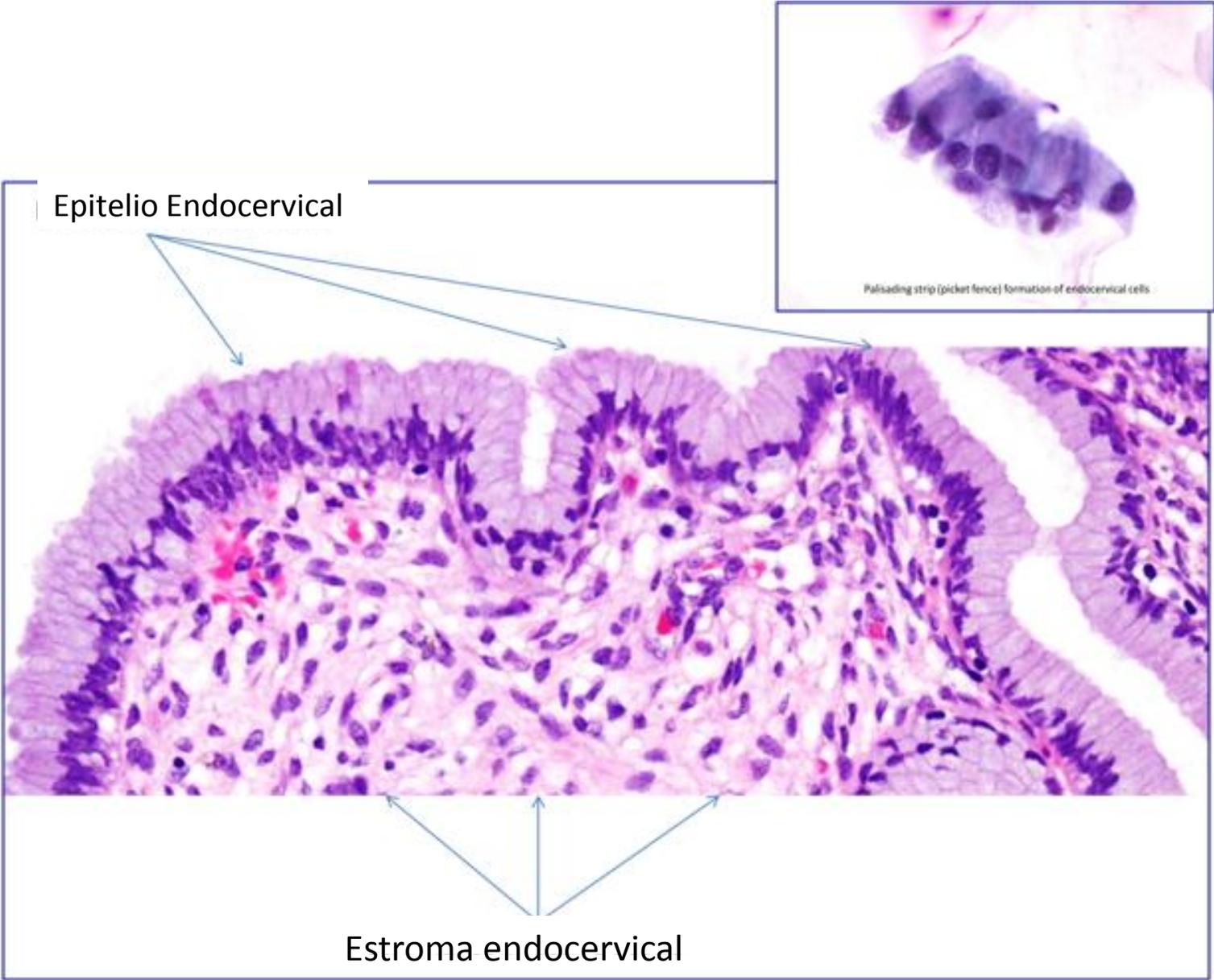
- El Grupo de Investigación de Dr. Luis Miguel Pastor (2003)



OBJETIVO PRINCIPAL

“Determinar cuál es la composición de mucinas y azúcares de la secreción “IN SITU” de las distintas zonas del canal endocervical en las distintas fases del ciclo, en humanos, y sus posibles implicaciones en el ámbito clínico.”

HISTOLOGIA



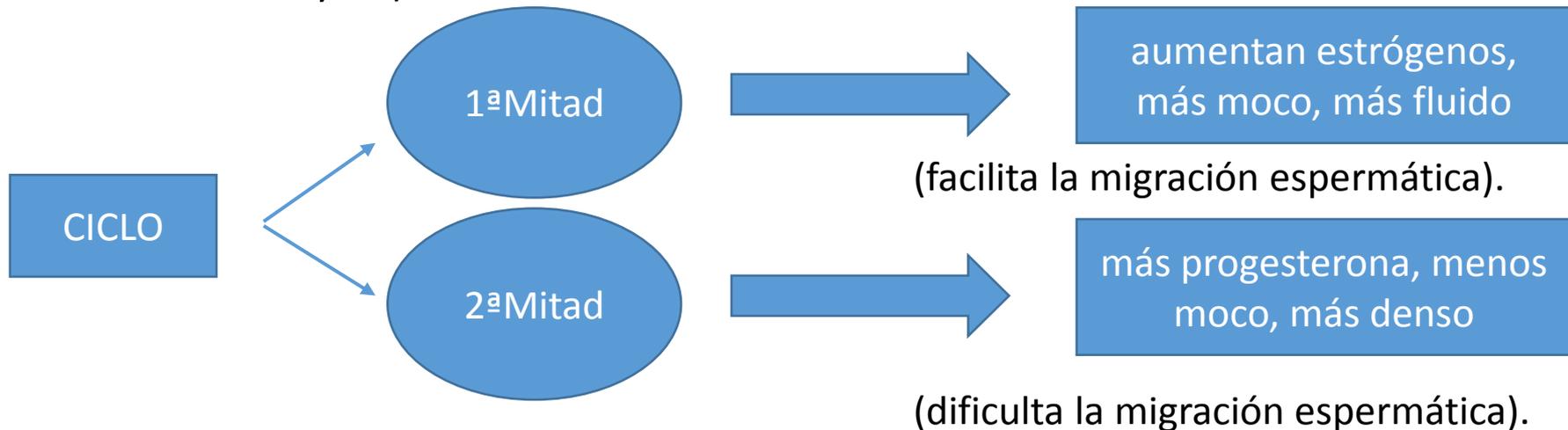
COMPOSICIÓN DEL MOCO

MUCINA:

Glucoproteínas (70-80% carbohidratos)

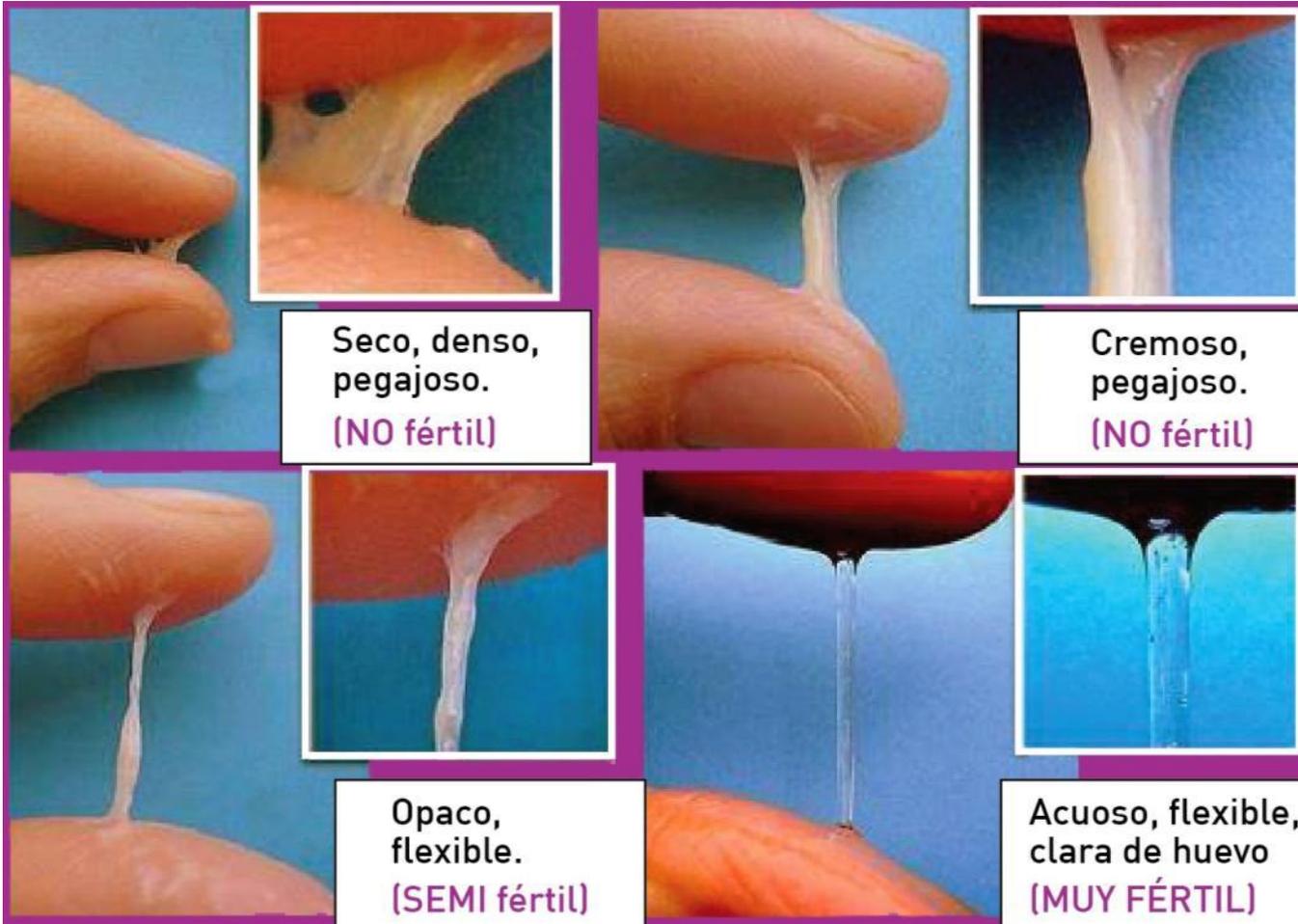
- Epitelio reproductor femenino: cinco tipos de mucinas
- Propiedades tipo gel

Secreción de moco HORMONODEPENDIENTE (Células columnares con RE y RP)

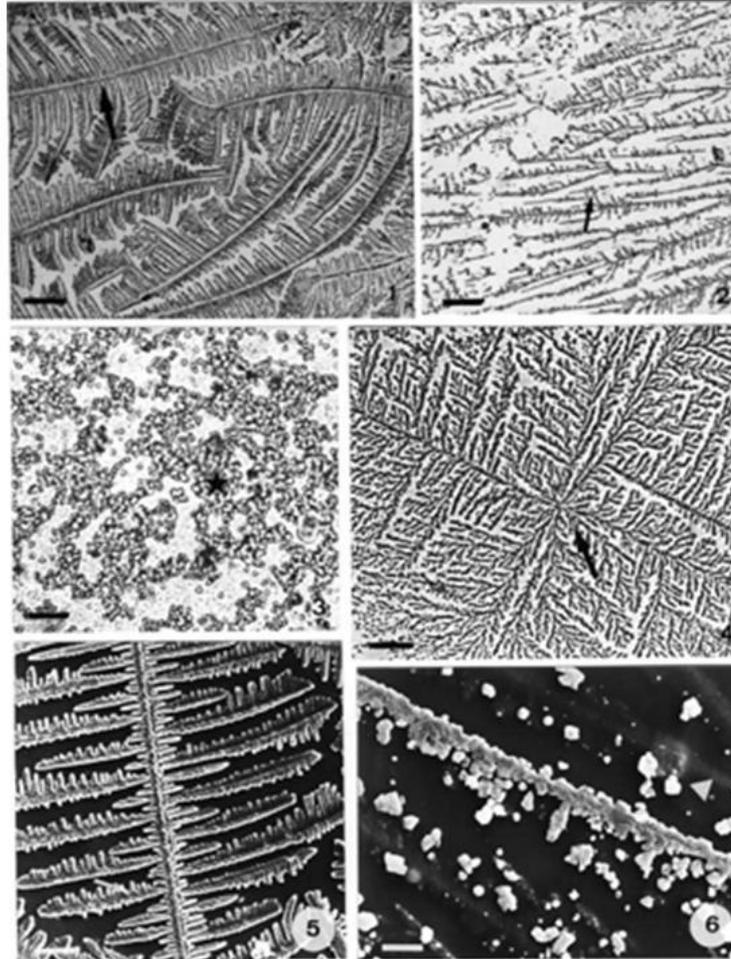


EN LA OVULACIÓN AUMENTAN LOS CARBOHIDRATOS Y POR LO TANTO LA HIDRATACIÓN DE LAS MUCINAS

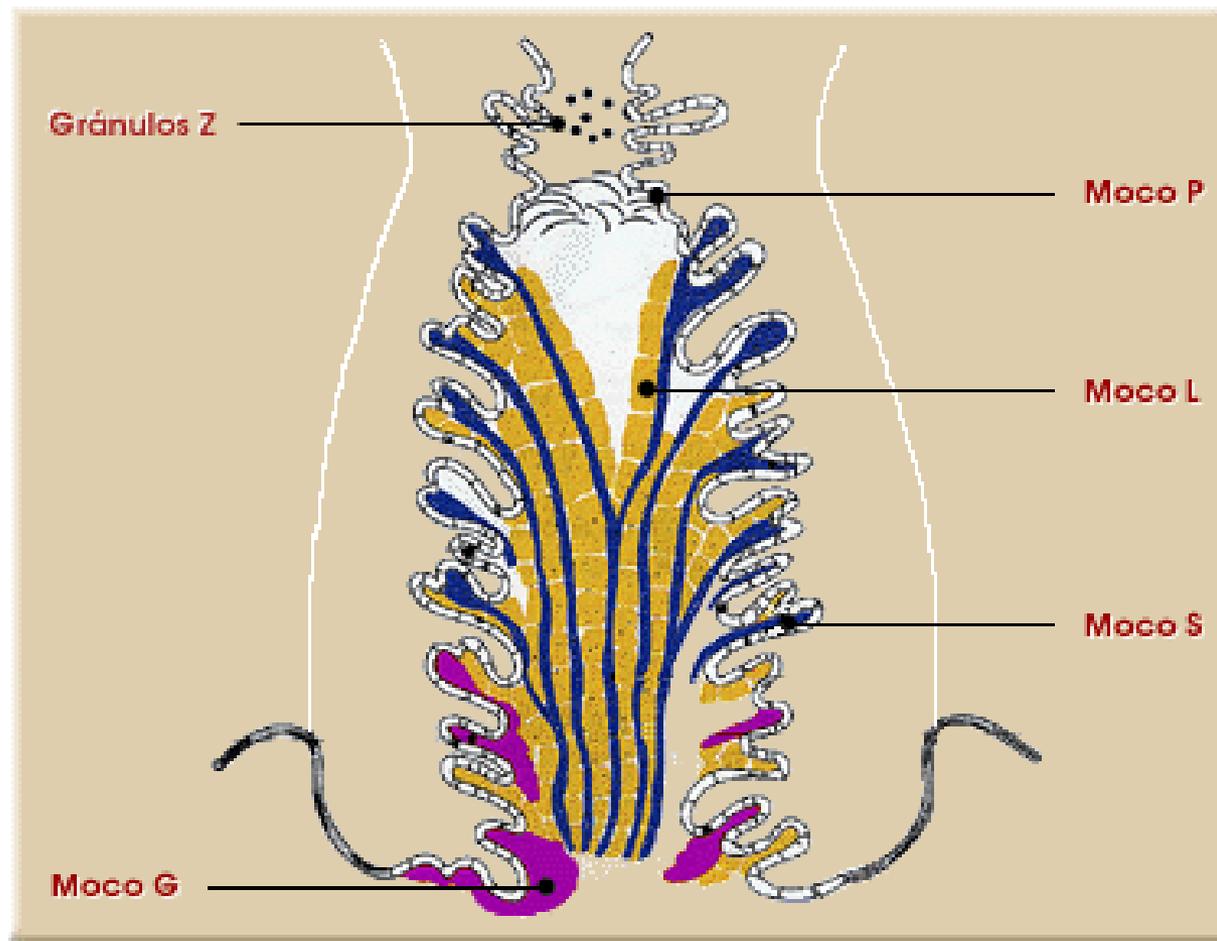
“Spinnbarkeit”



“Ferning”.



CORRELACIÓN ANATOMÍA-MOCO



FUNCIONES DEL MOCO CERVICAL

- Protección de la cavidad uterina
- Participa en el ascenso de los espermatozoides
- Factor cervical e infertilidad

METODOLOGÍA

- Aprobado por el Comité Científico y el Comité de Ética.
- Criterios de inclusión:
 - Ciclo menstrual activo
 - Ausencia de patología tumoral maligna
 - Ausencia de terapia hormonal
- Estado actual: 19 pacientes reclutados.
(8 en fase proliferativa).

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA LA DONACIÓN VOLUNTARIA DE MUESTRAS BIOLÓGICAS PARA INVESTIGACIÓN OBTENIDAS EN EL CURSO DE PROCEDIMIENTOS QUIRÚRGICOS, TERAPÉUTICOS O DIAGNÓSTICOS AL BIOBANCO DEL

HOSPITAL GENERAL UNIVERSITARIO DE ELCHE.

1.- IDENTIFICACIÓN Y DESCRIPCIÓN DEL PROCEDIMIENTO

Durante la intervención quirúrgica o la prueba diagnóstica a la que va a ser sometido se podrán tomar muestras de sus tejidos, sangre, así como fluidos (orina, esputo, saliva, etc) o microorganismos. El procedimiento que se le propone consiste en **donar voluntariamente** cualquier muestra biológica sobrante de la intervención o prueba a la que va a ser sometido a un biobanco de muestras biológicas, sin que ello suponga ningún riesgo añadido para su salud ni comprometa el correcto diagnóstico y tratamiento de su enfermedad. Dichas muestras biológicas excedentes podrán ser utilizados en proyectos de investigación biomédica que previamente sean aprobados por los comités externos, ético y científico, a los que está adscrito el biobanco.

Las muestras seguirán almacenadas en el biobanco hasta el fin de las existencias si no existe una revocación del presente consentimiento.

2.- OBJETIVO

La finalidad del biobanco es recoger y almacenar muestras biológicas humanas para realizar proyectos de investigación biomédica o diagnósticos. Los resultados de dichos proyectos de investigación pueden derivar en el descubrimiento de nuevos métodos para el mejor diagnóstico de las enfermedades y de nuevas medicinas para tratarlas.

3.- CONDICIONES DE LA DONACIÓN

Usted no recibirá ninguna compensación económica ni otros beneficios materiales por donar sus muestras. Sin embargo, si las investigaciones que se realicen tuvieran éxito, podrán ayudar en el futuro a pacientes que tienen su misma enfermedad o padecen otras enfermedades similares.

Las muestras que usted dona no serán vendidas o distribuidas a terceros con fines comerciales, pero los costes de obtención, conservación y envío de las muestras se repercutirán, sin ánimo de lucro, a quienes las utilicen.

La donación de muestras no impedirá que Usted o su familia puedan hacer uso de ellas siempre que estén disponibles, cuando así lo requieran. Debe saber que será prioritario el uso diagnóstico de la muestra que dona y que se garantizará un remanente de las muestras para este fin.

En caso de producirse un eventual cierre del biobanco o revocación de la autorización para su constitución y funcionamiento, la información sobre el destino de las muestras estará a disposición en el Registro Nacional de Biobancos para Investigación Biomédica, con el fin de que pueda manifestar su conformidad o disconformidad con el destino previsto de las muestras.

4.- CONSECUENCIAS PREVISIBLES DE SU REALIZACIÓN

Se podría dar la circunstancia de ser contactado/a con el fin de recabar nueva información sobre su situación o de tomar una nueva muestra que pudiera ser interesante en el desarrollo de la investigación biomédica, en cuyo caso volverá a ser informado/a de la situación y tendrá la libertad de participar o rechazar dicha participación. Por tal motivo, es importante que comunique al Servicio de Admisión del centro FUTUROS CAMBIOS DE DIRECCIÓN y números de TELÉFONO, ya que es la única vía para poder contactar con usted.

Es posible que se obtenga información relativa a su salud derivada del desarrollo de los proyectos de investigación y, en particular, datos genéticos con relevancia clínica. En este sentido, puede solicitar la información relativa a su salud derivada del estudio de las muestras donadas. Para ejercer este derecho,

DICTAMEN DEL COMITÉ CIENTÍFICO DE LA RED VALENCIANA DE BIOBANCOS

D. F. Ignacio Aranda López, Presidente del Comité Científico de la RVB.

CERTIFICA:

Que este Comité Científico de la RVB ha evaluado la solicitud de muestras con REFERENCIA RVB15003STS para el proyecto de investigación "Caracterización histoquímica y ultraestructural de las criptas cervicales humanas dentro del proyecto general de Investigación en Reproducción" del Dr. Luis Miguel Pastor García.

Considerándose procedente cesión de las muestras solicitadas al Biobanco de Elche con referencia S15-002 (ampliación a S14-001), mediante colaboración en la recogida de las mismas debido a que por la naturaleza del estudio las muestras deben ser extraídas directamente de la pieza en fresco y, a continuación, procesadas tal y como se indica en el proyecto de investigación antes mencionado.

INFORME DEL COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA

En relación con el Proyecto de Investigación titulado "**Caracterización histoquímica y ultraestructural de las criptas cervicales humanas**", cuyo Investigador Principal es el **Dr. Luis Miguel Pastor García**, del Dpto. de Biología Celular e Histología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Murcia.

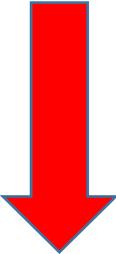
Los miembros del CEIC, en su reunión del 28 de Enero han evaluado el mencionado proyecto de investigación, y deciden emitir *Informe Favorable* para la realización del mismo en este Centro.



PASOS PARA LA RECOGIDA MUESTRAS DE CÉRVIX



PACIENTE X

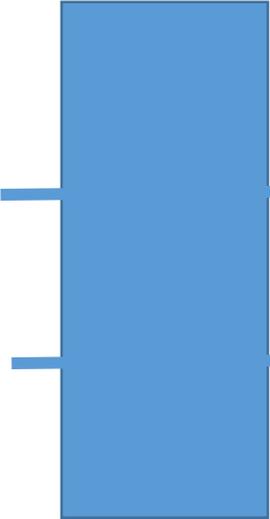


ENDOMETRIO



PROLIFERATIVO

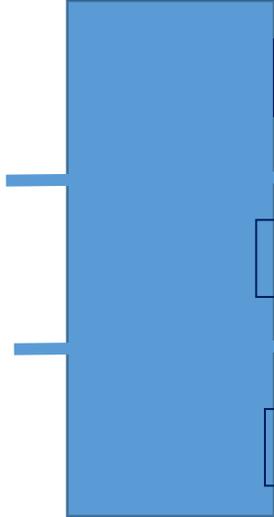
SECRETOR



1/3 Proximal

1/3 Medio

1/3 Distal



1/3 Proximal

1/3 Medio

1/3 Distal

METODOLOGÍA (TÉCNICAS)

- Histoquímica para el estudio Mucinas
 - H-E, AA pH1, AA pH2.5, AA PAS
- Histoquímica para el estudio de residuos glucídicos
 - Localizar *in situ* determinados carbohidratos terminales (aquéllos expuestos y reconocidos por la lectina que se está empleando) presentes en glucoproteínas y glucolípidos de las células
 - Hay lectinas que reconocen
 - Único residuo glucídico, como la lectina de *Helix pomatia* (HPA)
 - Varios azúcares con distinta afinidad, como es el caso de la lectina del germen de trigo (WGA, *Wheat Germ agglutinin*),

PLAN DE TRABAJO

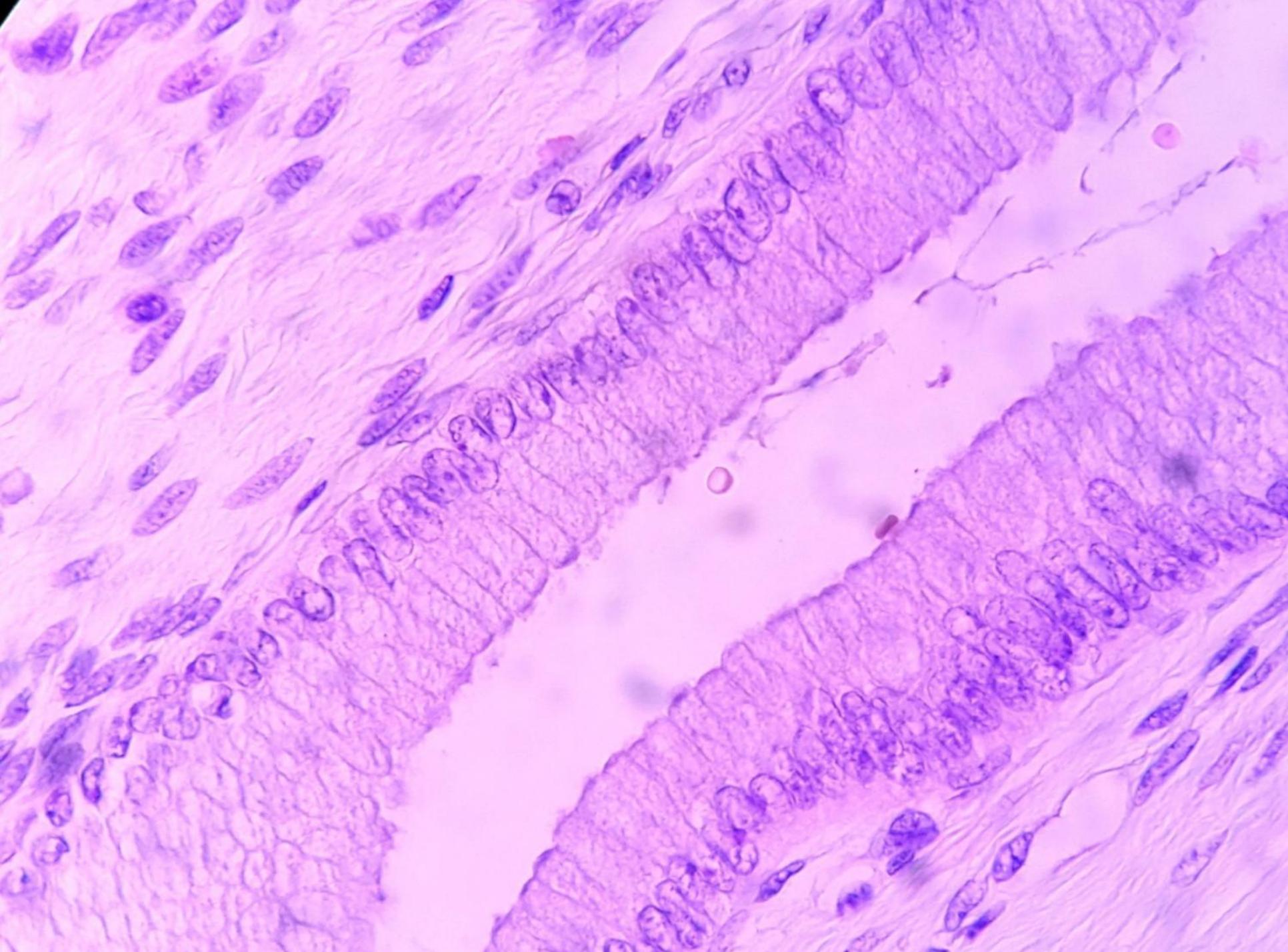
- La fase de reclutamiento de casos está cerrada
- Al mismo tiempo se han ejecutado los siguientes procesos:
 - Creación de una base de datos (en colaboración con el servicio de ginecología).
 - Procesado parcial del material obtenido y realización de histoquímica de mucinas.
 - Análisis del grupo proliferativo con histoquímica de mucinas.

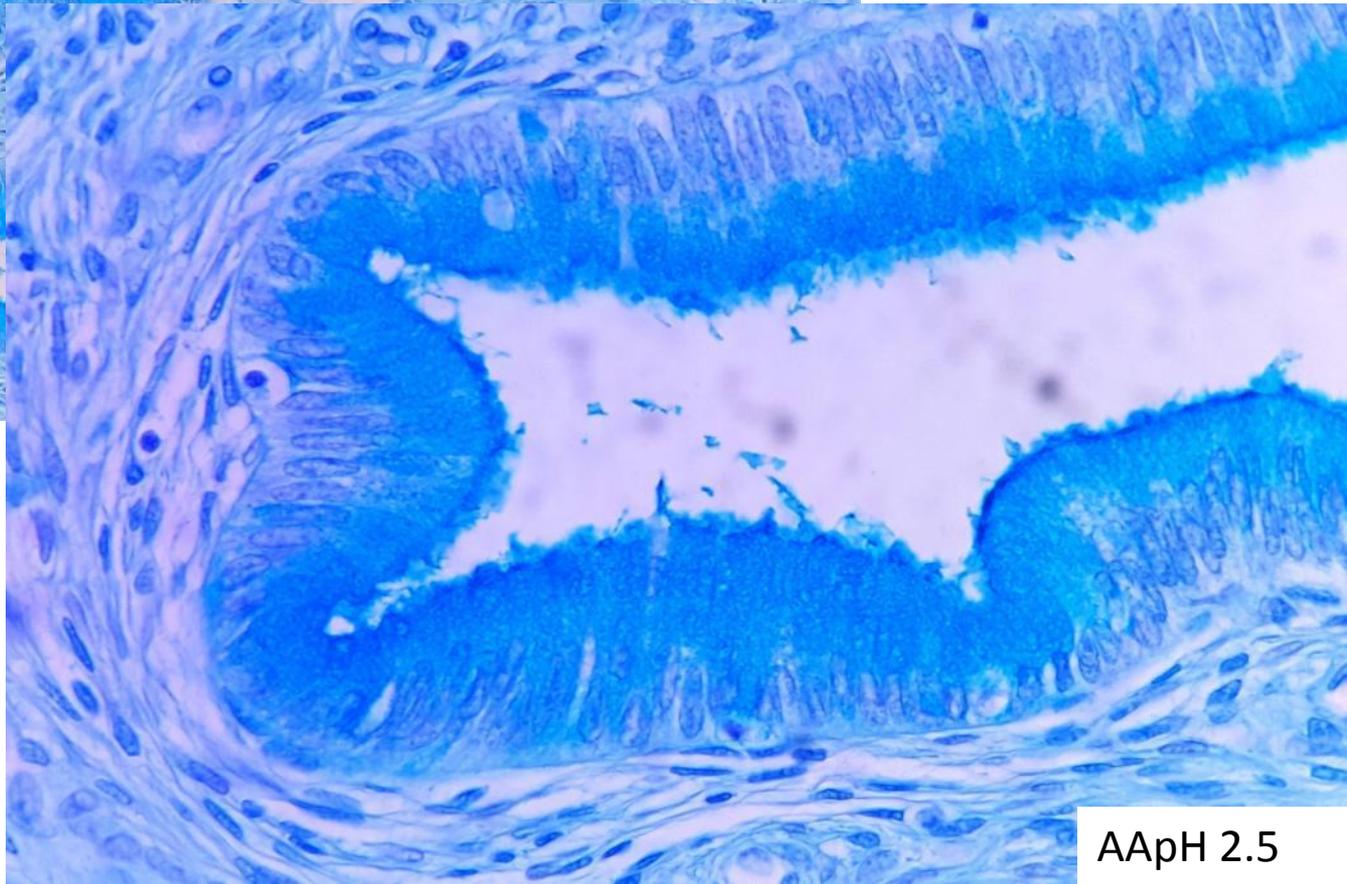
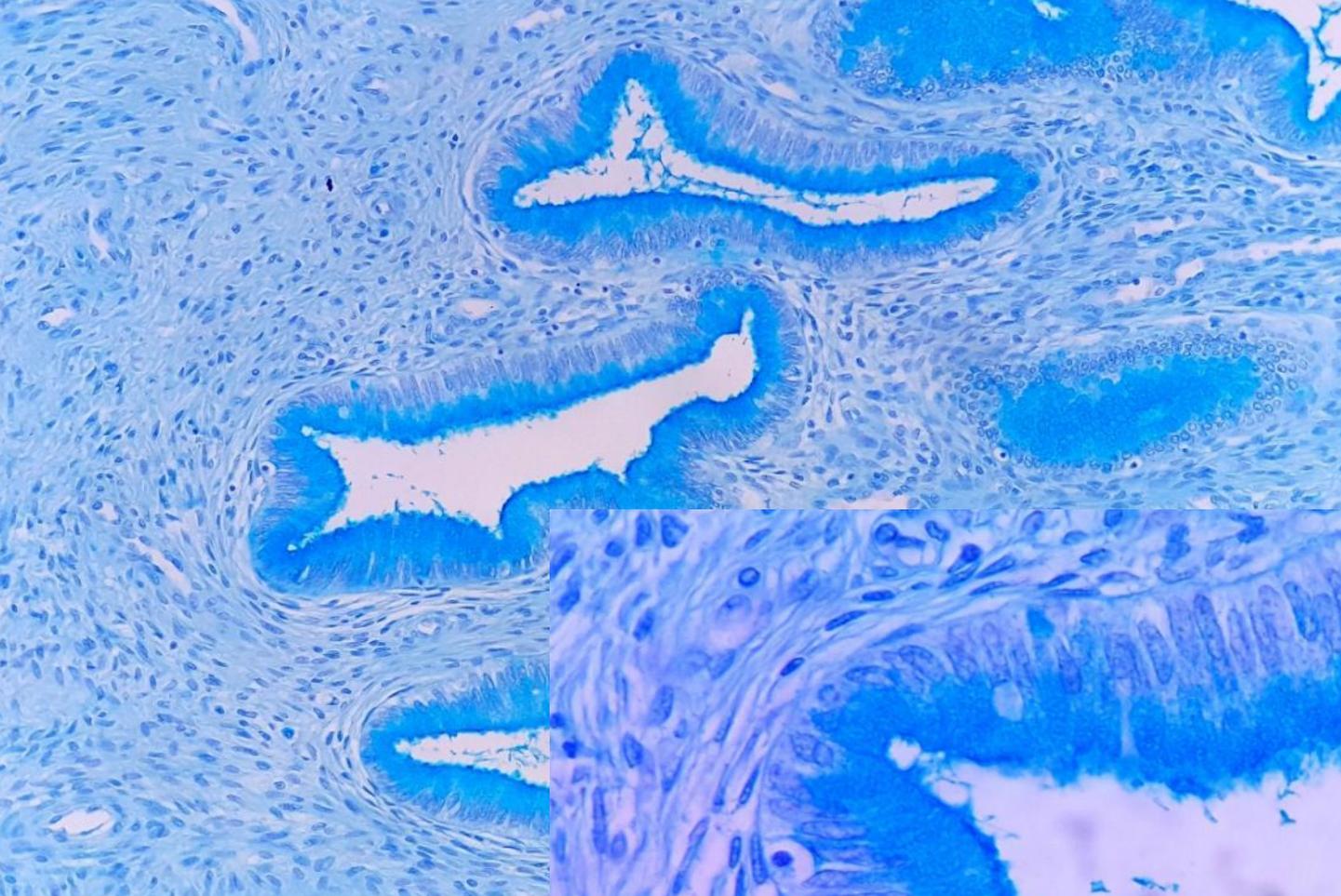
Tabla 1. Características principales de las pacientes reclutadas para el estudio.

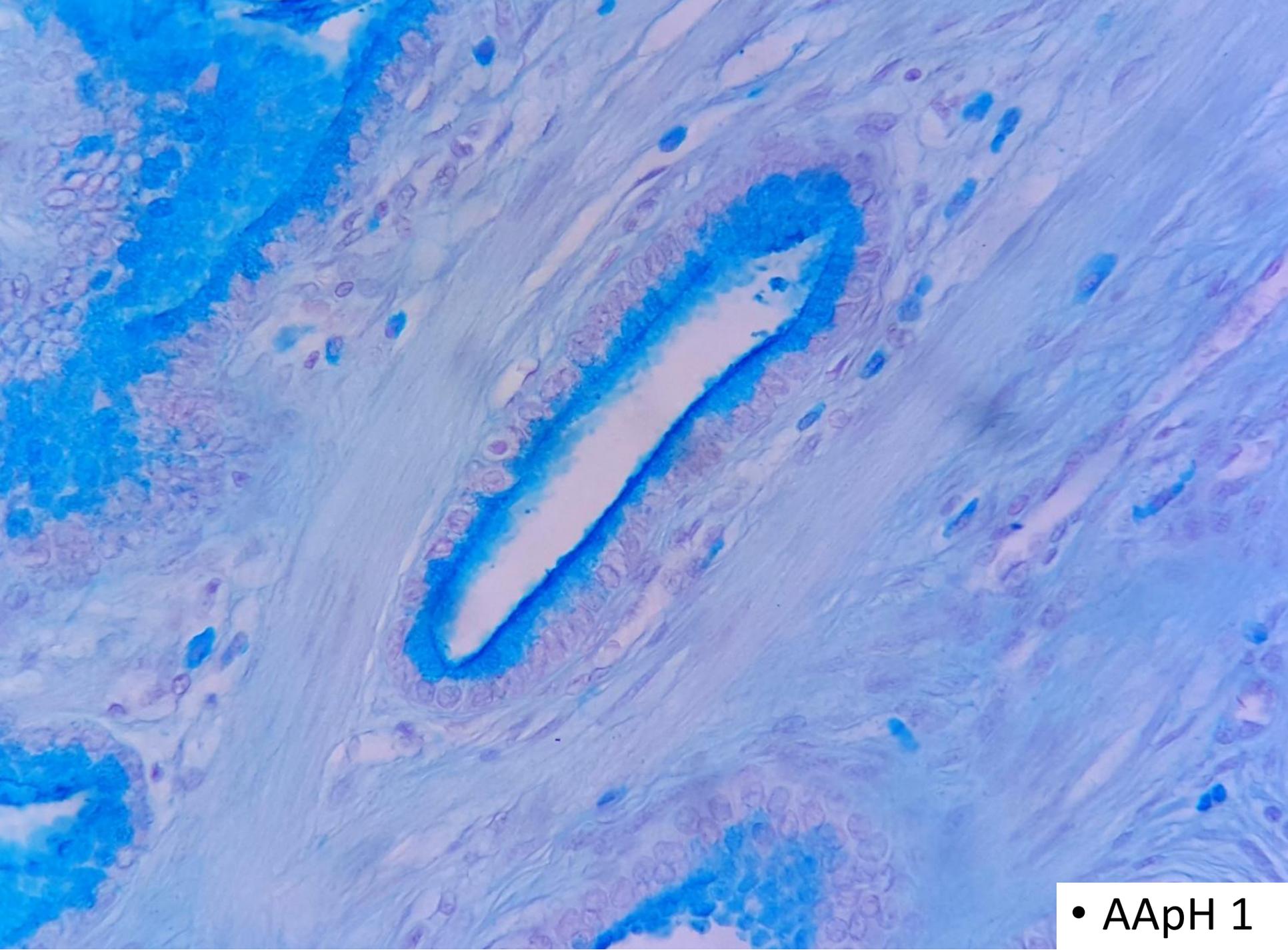
Nº	EDAD	DIAGNÓSTICO	IQX	AP Endometrio	AP Cérvix
1	41	Mioma	HTA + salpinguectomía bilateral	Proliferativo	Cervicitis aguda
2	48	Mioma	HTA + DA	Proliferativo	Cervicitis crónica inespec e hiperqueratosis
3	46	Miomas	HTA + DA	Proliferativo	Metaplasia escamosa
4	47	Miomas	HTA + salpinguectomía bilateral	Hipersecretor	Sin alteraciones
5	50	Mioma	HTA + DA	Secretor	Quiste Naboth
6	41	Mioma	HTA + salpinguectomía bilateral + quistectomía	Menstrual	Adenosis microglandular quística
7	51	Mioma	HTA+DA	Secretor Tardío	Sin alteraciones
8	44	Mioma	HTA+DA	Secretor	Metaplasia escamosa
9	48	Miomas	HTA+DA	Proliferativo	Cervicitis crónica
10	46	Mioma	HTA+DA	Secretor	Cervicitis crónica quística
11	49	Miomas	HTA+DA	Secretor avanzado	Metaplasia escamosa
12	50	Miomas	HTA+DA	Secretor	Sin alteraciones
13	47	Miomas	HTA+DA	Secretor	Sin alteraciones
14	48	Miomas y quiste ovario derecho (endometriósico)	HTA+DA	Proliferativo	Sin alteraciones
15	45	Utero metropático y quiste ovario derecho	HTA+DA	Proliferativo	Sin alteraciones
16		Prolapso	HT simple	Hipoactivo (entre proliferativo y atrofico)	Cervicitis crónica, metaplasia escamosa
17	45	Mioma	HTA+DA	Hipoactivo (entre proliferativo y atrofico)	Cervicitis crónica, metaplasia escamosa
18	49	Mioma	HTA+DA	0	0
19	44	Mioma	HTSimple+Salpinguectomia bilateral	Hipersecretor	Metaplasia escamosa

RESULTADOS

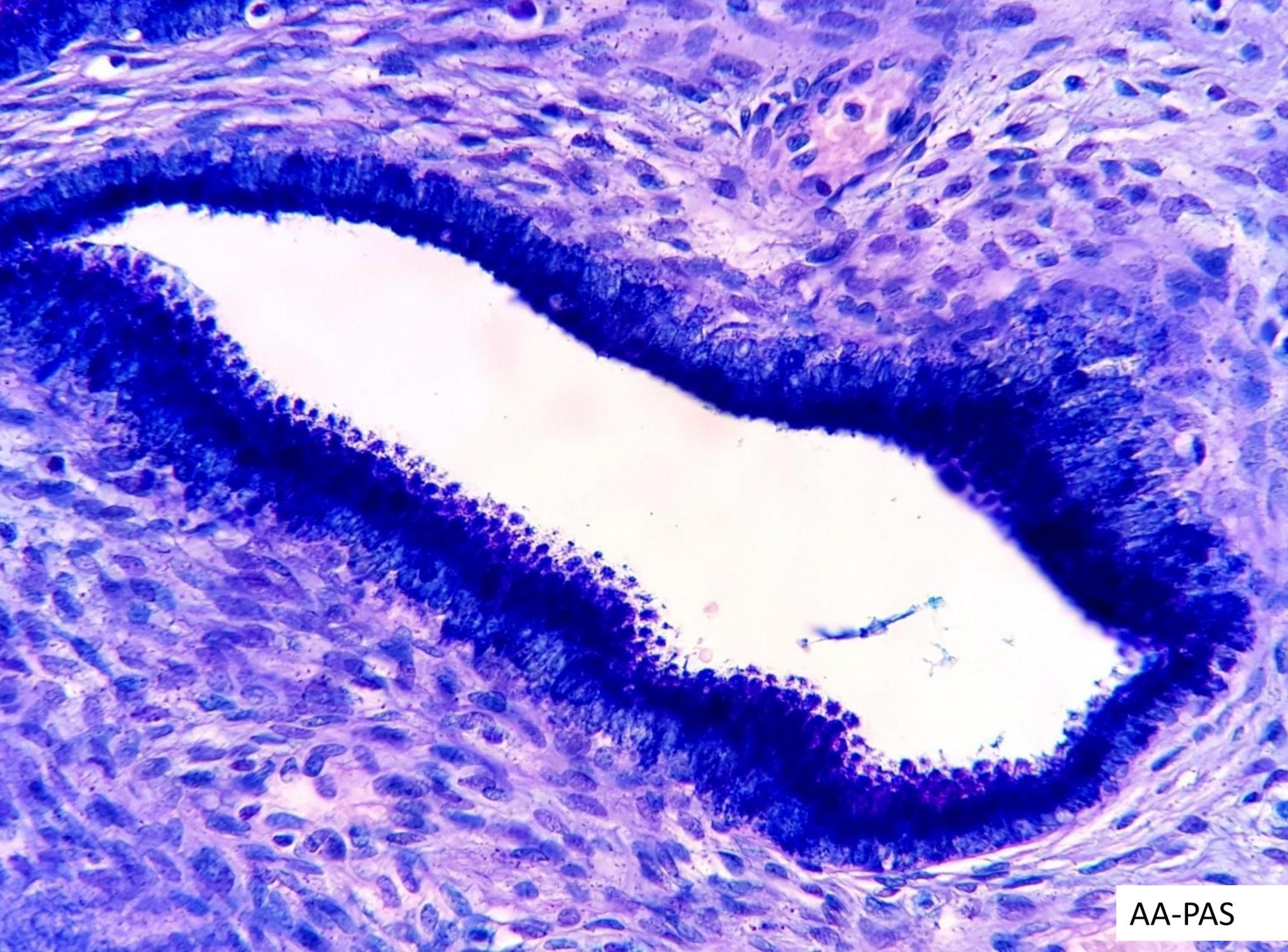
- IMÁGENES DE LAS TINCIONES REALIZADAS



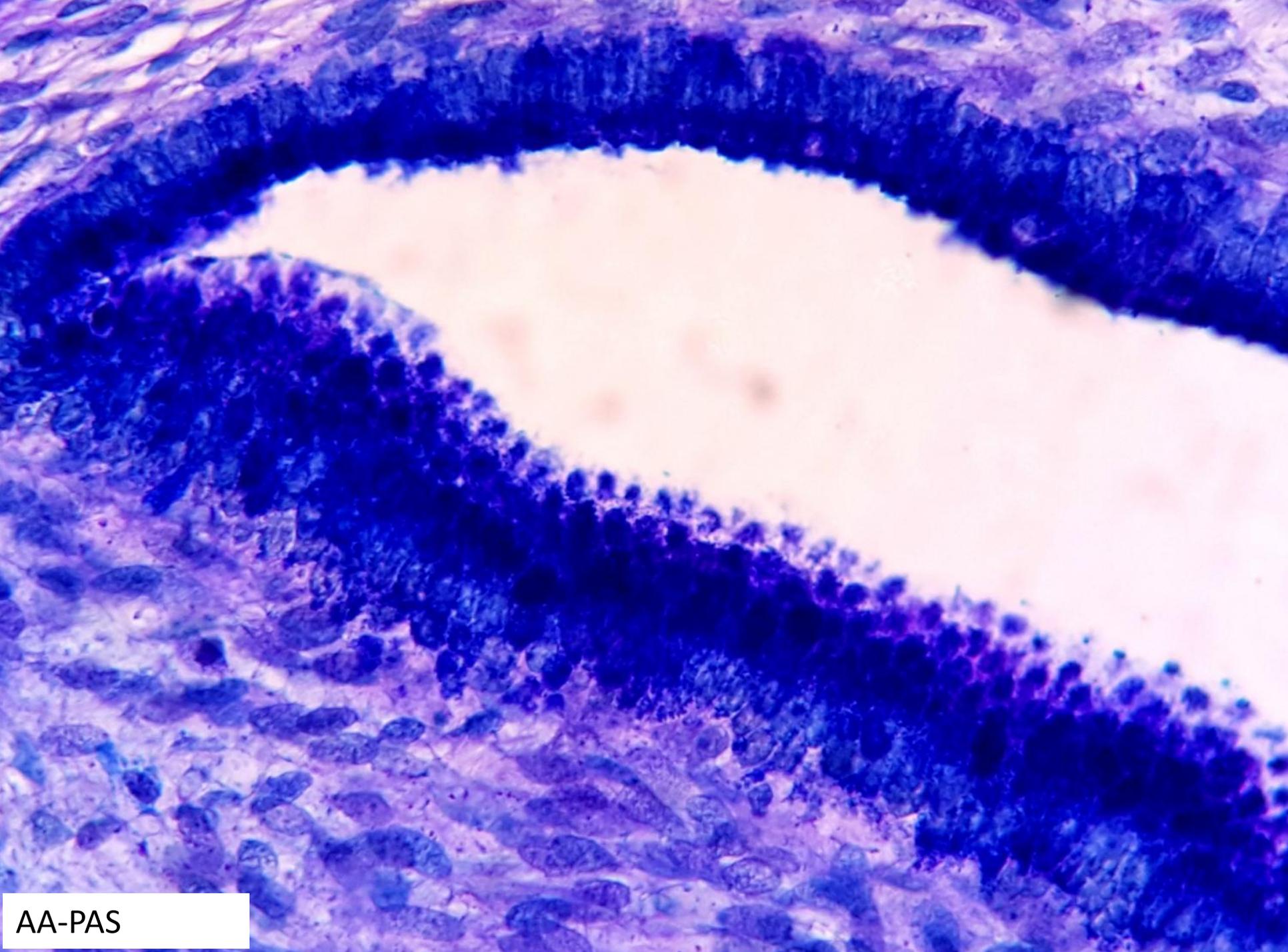




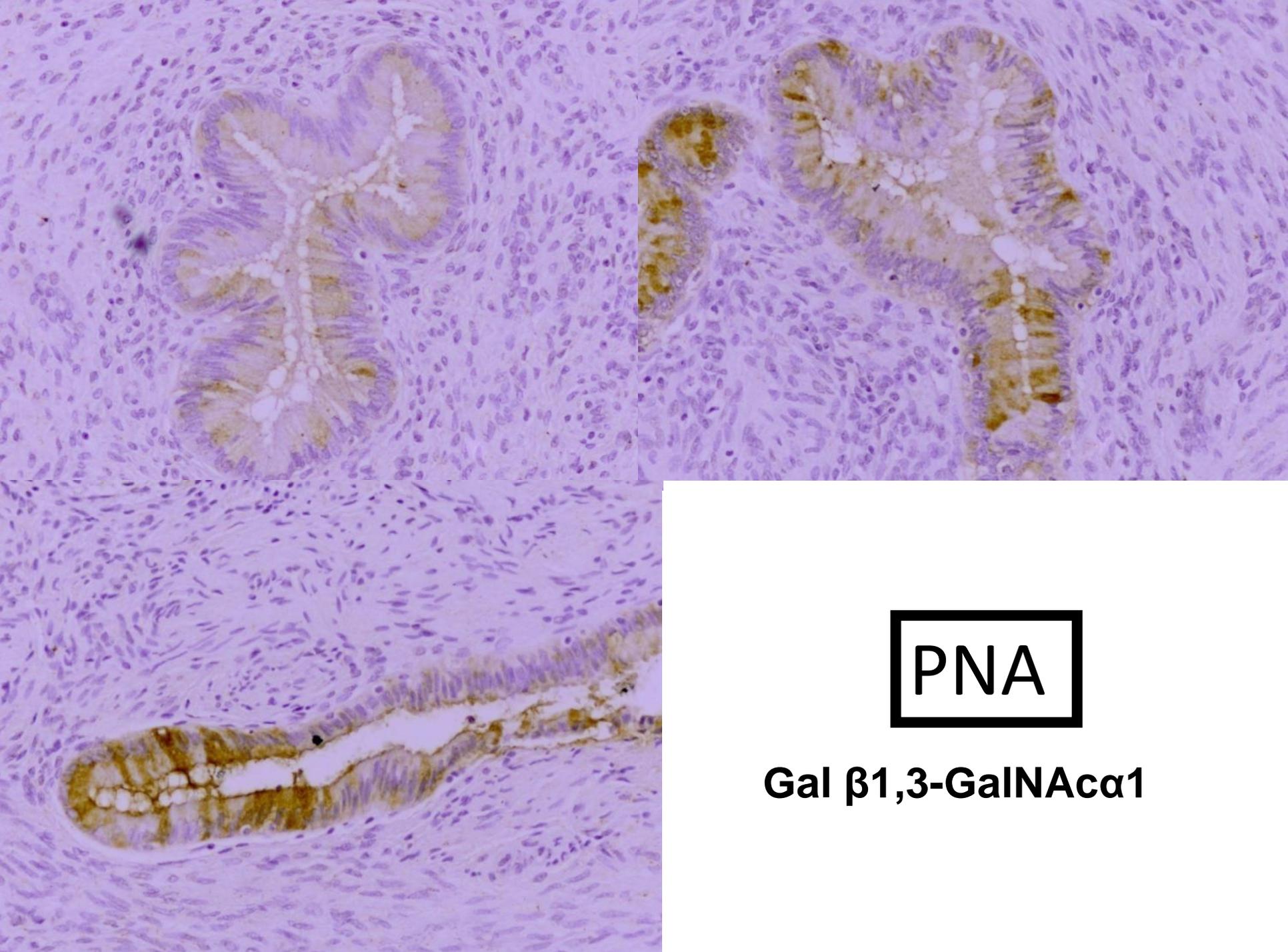
• AApH 1



AA-PAS

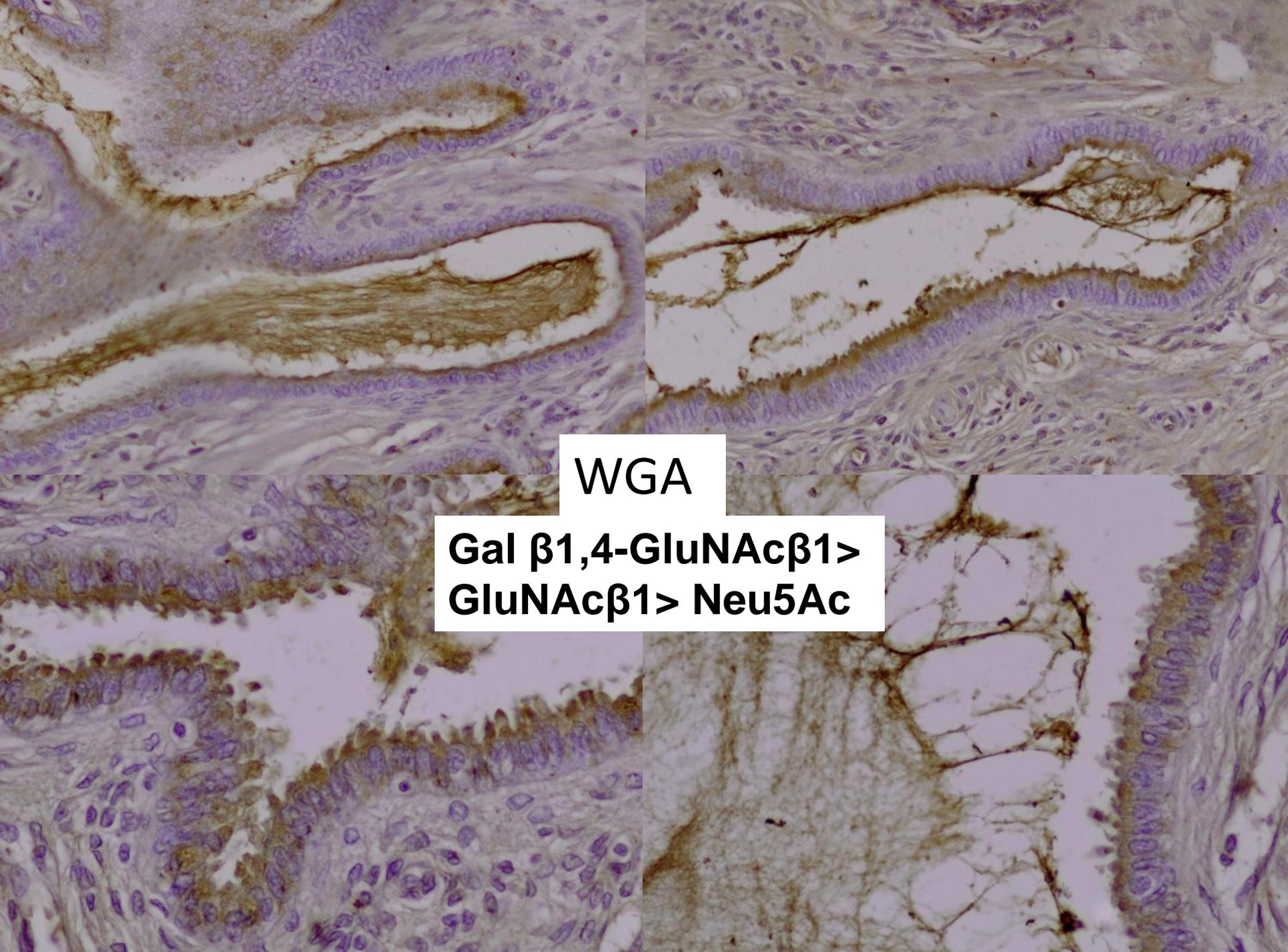


AA-PAS



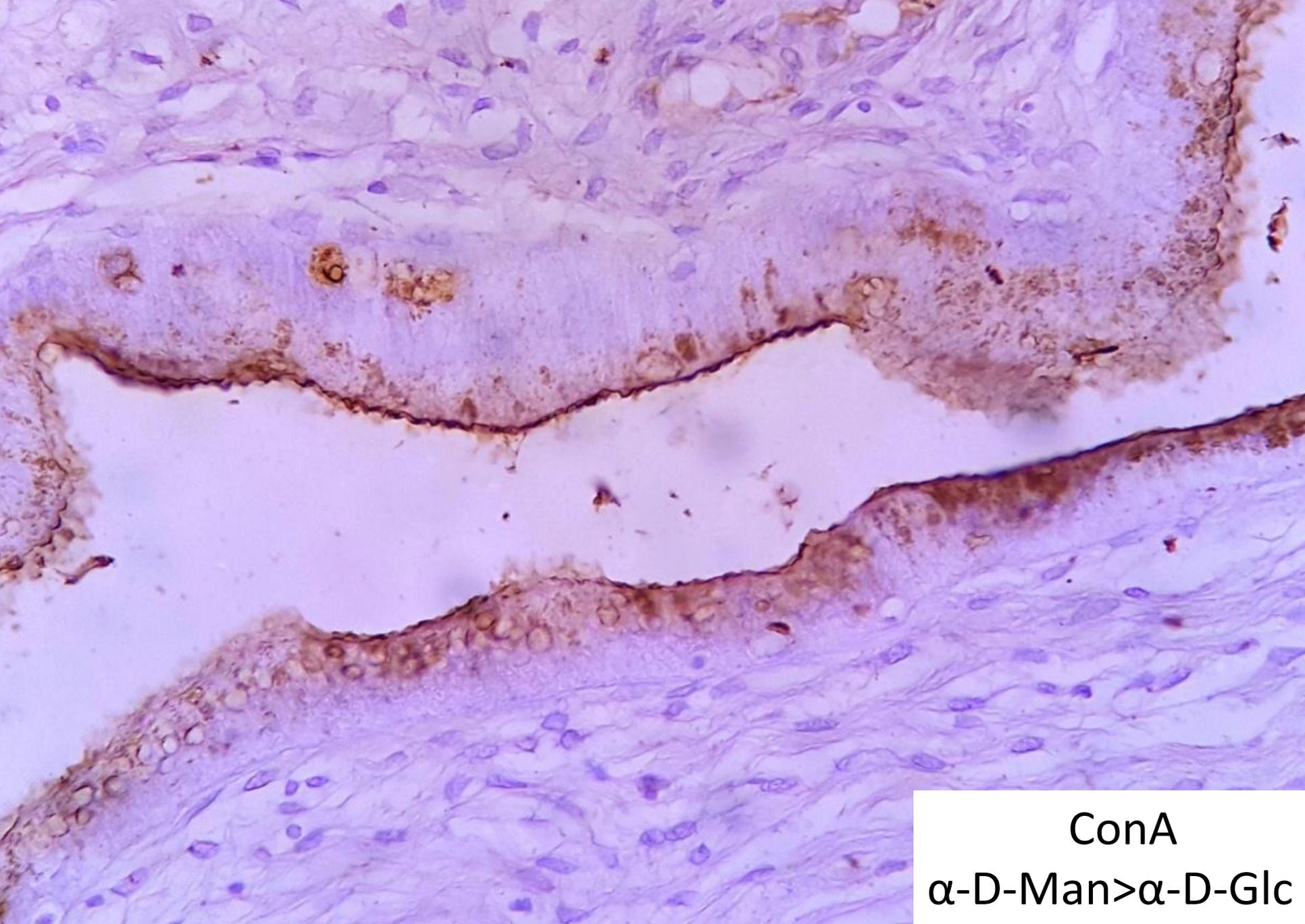
PNA

Gal β 1,3-GalNAc α 1



WGA

**Gal β 1,4-GluNAc β 1 >
GluNAc β 1 > Neu5Ac**



ConA
 α -D-Man \gt α -D-Glc

RESUMEN DE RESULTADOS ANALIZADOS

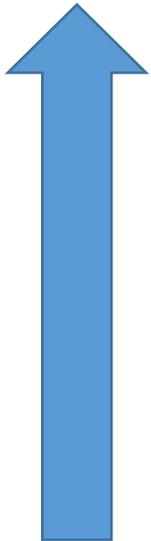
- Endocervix proliferativo predominan mucinas ácidas sobre neutras
 - En el tercio proximal/medio predominan las sulfomucinas
 - En el tercio distal las sulfomucinas con sialomucinas
- F. proliferativa (o estrogénica) rica en carboxilos y sulfatos heterogéneo (sialomucinas aumentan con respecto a las sulfomucinas de proximal a distal)
- CONSECUENCIA: Variaciones en la fluidez. El modelo completo cuando se analize el secretor y el hipersecretor.

POSIBLES APLICACIONES CLÍNICAS DE LOS RESULTADOS

- BASE: mapa topográfico de secreción de azúcares y composición del moco según fase de ciclo

POSIBLES APLICACIONES CLÍNICAS DE LOS RESULTADOS

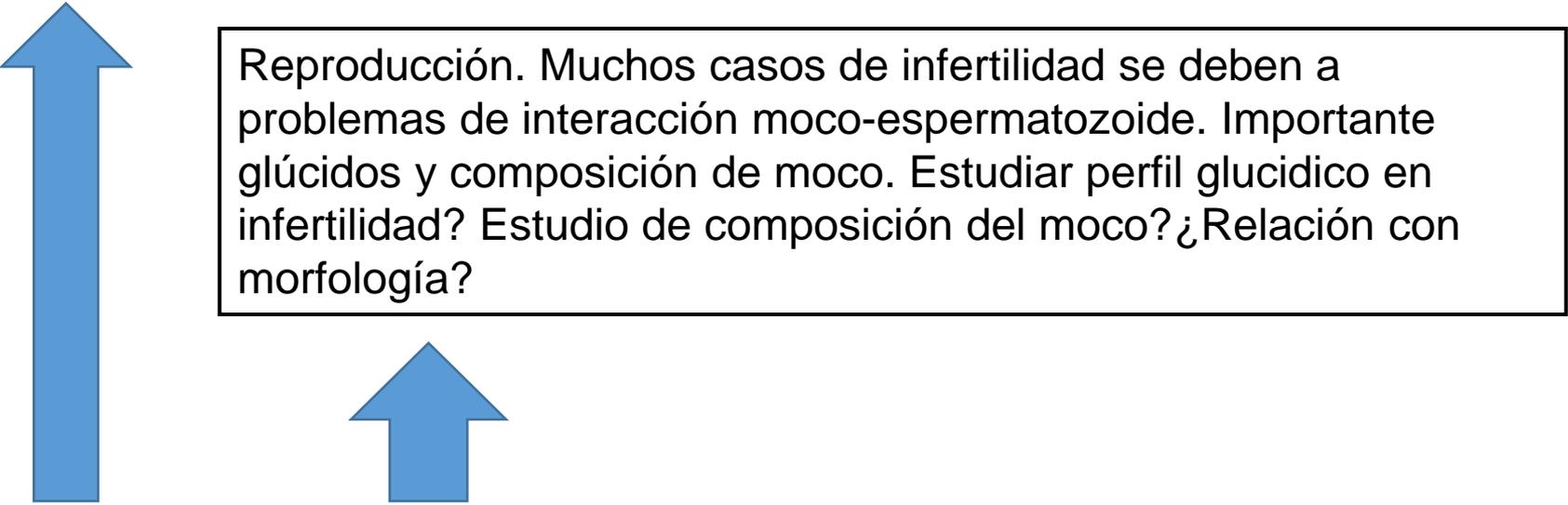
Pacientes con displasia o carcinoma ¿presentan alteración en composición de azúcares? ¿Podría una tinción de lectinas ser marcador de displasia o carcinoma? ¿Una lectina distinta según tercio?



- BASE: mapa topográfico de secreción de azúcares y composición del moco según fase de ciclo

POSIBLES APLICACIONES CLÍNICAS DE LOS RESULTADOS

Pacientes con displasia o carcinoma ¿presentan alteración en composición de azúcares? ¿Podría una tinción de lectinas ser marcador de displasia o carcinoma? ¿Una lectina distinta según tercio?



Reproducción. Muchos casos de infertilidad se deben a problemas de interacción moco-espermatozoide. Importante glúcidos y composición de moco. Estudiar perfil glucídico en infertilidad? Estudio de composición del moco? ¿Relación con morfología?

- BASE: mapa topográfico de secreción de azúcares y composición del moco según fase de ciclo

PRESUPUESTO

- Estudio dentro del proyecto 04543/GERM/07
 - Fundación Séneca (Región de Murcia)
 - Comunidad Autónoma de Murcia
 - Cuantía: 300.000 euros

Yo sólo estaba frotando los palos para ver que pasaba.
No sabía que daría lugar a una aplicación práctica

