
ESTUDIO DE GENERACIÓN DE COLÁGENO DE CÉLULAS ESTELARES HEPÁTICAS

SOMETIDAS A DIFERENTES MEDIOS DE CULTIVO

ESTADÍSTICA NO PARAMÉTRICA - TRABAJO PRÁCTICO

AÑO 2025

Profesor Titular: Javier Bussi

Jefa de Trabajos Prácticos: Valentina Castellanos

1. Introducción

La fibrosis, definida como una producción exacerbada de matriz extracelular (ECM), es una condición característica de las enfermedades hepáticas crónicas. Este proceso contribuye al establecimiento de un ambiente inflamatorio crónico que altera la comunicación entre las células hepáticas y favorece la transformación tumoral, dando lugar al carcinoma hepatocelular (HCC), que es el cáncer hepático más común (Gilgenkrantz, 2025).

Las células centrales en la fibrogénesis son las células estelares hepáticas (HSC), que producen colágeno al activarse por diversas señales metabólicas internas ante cambios ambientales y externas como factores de los hepatocitos dañados y citoquinas como el TGBb (Tsuchida, 2017). Además de ser parte de la carcinogénesis, la fibrosis es parte del microambiente tumoral una vez instalado el HCC. En efecto, la acumulación de colágeno en la ECM puede estimular el crecimiento tumoral, impedir la respuesta inmune y favorecer la resistencia a inmunoterapia.

En este trabajo, se propone estudiar la producción de colágeno en células HSC. A tal fin se generaron 4 muestras independientes de células (el mismo tipo, crecidas en iguales condiciones previas) en cuatro medios de cultivo distintos: con suero fetal en baja proporción (suero fetal 1% -SFB 1%-) considerada la condición basal o control, con suero fetal en alta proporción (suero fetal 10% -SFB 10%-), considerada una condición de activación de la fibrogénesis y en estas mismas condiciones pero con o sin una mezcla de compuestos (metformina y ácido lipoico) que se supone pueden actuar como antifibrogénicos, es decir disminuir la capacidad de las células de producir colágeno. El suero en mayor cantidad activa a estas células, las hace pasar de un estado quiescente (es el estado control) a un estado en donde se diferencian a otro tipo celular y pueden producir mucho colágeno.

2. Material

Se cuenta con cuatro grupos de células sometidas a distintos tratamientos:

- SFB 1%
- SFB 10%
- SFB 1% con metformina y ácido lipoico
- SFB 10% con metformina y ácido lipoico

La variable medida en cada célula corresponde a la proporción de superficie de la célula que se encuentra ocupada por colágeno. La cantidad de observaciones para cada tratamiento no es la misma. Los datos se proveen en el archivo datostp.xlsx.

Para lograr medir la variable estudiada las células fueron crecidas sobre cubreobjetos de vidrio y luego de la aplicación de los tratamientos fueron fijadas e incubadas con anticuerpo anti COL1A1, faloidina y DAPI conjugados con fluoróforos para teñir los gránulos de colágeno, la actina celular y los núcleos, respectivamente. Se observaron las mismas por microscopía de fluorescencia, se tomaron fotos aleatorias que fueron analizadas con el software Image J con el fin de calcular el área de los gránulos de colágeno y el área total celular (faloidina).

3. Objetivos

Objetivo general

- Determinar cuales son las condiciones (tratamientos) que producen mayor o menor cantidad de colágeno

Objetivos específicos

- Determinar la distribución de la proporción de superficie de la célula que se encuentra ocupada por colágeno para las distintas condiciones.
- Determinar cuales son las condiciones que generan mayor o menor producción de colágeno en promedio.
- Determinar cuales son las condiciones que generan mayor o menor variabilidad en producción de colágeno.

4. Lineamientos generales del trabajo práctico

Como en todo trabajo en el que se participe como estadístico, es necesario entender primero de qué se está hablando, leer sobre el tema en estudio y conocer las características de los datos antes de empezar a probar hipótesis y utilizar métodos más complejos de análisis. Si luego de leer la descripción del problema y las variables tenidas en cuenta y de explorar el conjunto de datos tiene alguna pregunta o inquietud, consulte con los docentes.

Elabore un análisis descriptivo que crea adecuado para conocer el grupo de datos con el que se está trabajando, incluyendo estadísticas, gráficos y tablas, siempre interpretados en términos del problema.

Plantee hipótesis que estén relacionadas con los aspectos mencionados en los objetivos y en cada caso decida los procedimientos adecuados para probarlas. Puede utilizar cualquiera de las técnicas no paramétricas aprendidas a lo largo del curso, siempre que corresponda. Tenga en cuenta las escalas de medida de las variables.

5. Instrucciones para la presentación

A la hora de presentar el trabajo, trate de seguir los siguientes lineamientos generales, sin necesidad de cumplirlos exactamente al pie de la letra. Use su criterio personal.

- El informe debe estar dirigido a una audiencia interesada e instruida en el tema de estudio, que si bien son usuarios de la estadística y tienen interés en los resultados, no necesariamente son estadísticos. Por ejemplo: profesionales de la salud, bioquímicos dedicados a la investigación, directores de institutos de investigación, funcionarios en el área de salud, etc.
- Presente una parte introductoria planteando el problema y comentando sobre el tipo de datos a analizar (una página como máximo). Puede presentar una sección titulada Material donde se hable más en detalle acerca de los datos, su procedencia y la forma en que fueron recolectados. También puede presentar una sección metodológica donde se mencione de manera breve y poco técnica (es decir, comprensible para los potenciales lectores) las técnicas estadísticas utilizadas (es decir, la metodología).
- En una sección que corresponde al desarrollo del trabajo, cuyo título puede ser Resultados, presente el análisis descriptivo e inferencial según su criterio.
- En cuanto a lo descriptivo, incluya aquellos gráficos y tablas que considere adecuados y realice los comentarios sobre lo que se observa en el conjunto de datos (sólo lo que desee destacar, no transcriba en palabras todo lo que se ve).
- Sobre lo inferencial, plantee cuidadosamente la hipótesis que va a probar sin utilizar terminología estadística específica, luego incluya brevemente los resultados obtenidos (tales como valor de la estadística, probabilidad asociada y algún otro dato relevante). Esto generalmente se presenta de la siguiente forma: $(R=12, p=0,017)$, donde R es la estadística utilizada y su valor observado y p es el valor de la probabilidad asociada. Concluya en términos del problema. Justifique brevemente la técnica utilizada y si debió realizar algún supuesto o modificación para su aplicación (esto puede ir en la sección de metodología). No escriba la teoría de la técnica, simplemente justifique su uso para saber por qué decide utilizar esa y no otra.
- Debe integrar ambos análisis (descriptivo e inferencial) en el trabajo, ya que están profundamente vinculados. Por ejemplo una tabla de contingencia y un gráfico pueden estar seguidos de una prueba de hipótesis apropiada. Plantee las hipótesis en términos del problema de una manera que no sea técnica, es decir: H_0 ... H_1 ... no es un estilo recomendado para este tipo de informe. No deben ser presentadas todas las tablas y gráficos al principio y luego todas las pruebas al final, sino que deben estar intercaladas según las variables que se analicen.
- Si se encuentra repitiendo el mismo tipo de gráfico con diferentes variables, considere si no es posible presentar todo en una única figura, con paneles que organicen los resultados.
- Asegúrese de comprender lo que miden las variables.
- Redacte una sección final dedicada a las conclusiones, con todos los hallazgos que considere relevantes. Esta sección deberá tener a lo sumo dos páginas, en la medida de lo posible.
- El análisis debe realizarse en RStudio.
- Incorpore en un anexo las salidas resumidas del código programado, gráficos que decida no incorporar en el cuerpo del trabajo pero que considere necesario presentar y cualquier otra información que considere de utilidad, por ejemplo, las cuestiones técnicas tales como hipótesis en términos estadísticos o fórmulas de estadísticas criterio (si decidiera incluirlas). Esta sección puede estar dirigida al profesional estadístico que quiera interiorizarse sobre los detalles del

análisis. No incluya una impresión de los datos en el anexo ni páginas de salidas que no sean relevantes.

- No incluya el código en RStudio en el anexo. Provea un enlace a una carpeta en la nube donde se pueda acceder al o los archivos de código utilizados, los cuales deben poder ser ejecutados sin errores. Asegúrese que el código esté ordenado y comprensible, y se pueda identificar con claridad con qué sección del código se reproducen los resultados obtenidos en cada parte del informe.
- A la hora de redactar utilice un modo impersonal, en tercera persona.
- Si desea hacer sugerencias para mejorar el estudio de estos tipos de datos o si considera que faltaría recolectar alguna variable relevante, etc. escriba una sección especial para tal fin, la cual puede ser denominada Discusión.
- Extensión límite: 10 páginas (incluyendo el anexo). Este límite debe ser cumplido estrictamente.

6. Entrega, evaluación y presentación oral

La fecha de entrega del trabajo es el **lunes 20 de octubre de 2025 (hasta las 23:59h)**. Los grupos que quieran entregar los trabajos antes pueden hacerlo. Los trabajos deben ser enviados vía email a valentina.castellanos@fcecon.unr.edu.ar y jbussi@fcecon.unr.edu.ar en formato PDF.

En general, una vez entregado, el TP es corregido y devuelto para que se incorporen las correcciones hechas. La devolución de la corrección se lleva a cabo en una reunión donde deben estar presentes TODOS los autores del trabajo. En esa oportunidad se clarifican las correcciones, se sugieren posibles estrategias alternativas de análisis y se responden preguntas o dudas que pudieran existir. La fecha para la segunda entrega es el **domingo 9 de noviembre de 2025 (hasta las 23:59hs)**. Esta versión del trabajo será calificada.

Una vez aprobados, los trabajos deberán ser presentados por los estudiantes en clase el **viernes 28 de noviembre de 2025 (horario a confirmar)**. La presentación deberá enfocar los aspectos principales del estudio y no deberá superar los 15 minutos. Se proveerán más detalles sobre las presentaciones cuando se llegue a esa instancia. Es condición necesaria aprobar y exponer este trabajo para regularizar la asignatura y poder presentarse a rendir el examen final.

7. Consideraciones finales

El trabajo práctico lleva su tiempo, pero con dedicación su resolución es relativamente corta en comparación a la cantidad de semanas disponibles para su entrega. **Es aconsejable aprovechar tempranamente la posibilidad de consultar las dudas, ya que una vez terminado el análisis, lleva tiempo organizar, redactar y editar el trabajo.** Las consultas pueden ser hechas vía email, pero en caso de que sea difícil o muy extenso responder por ese medio, se acordará una reunión con el grupo que tenga la inquietud. No es aconsejable que guarden todas las consultas para los últimos días antes de la entrega. El trabajo debe ser realizado por 3 alumnos, salvo alguna excepción, debidamente justificada. Si no fuese posible que queden todos los grupos con 3 integrantes, consultar a los docentes para terminar de definir la composición de los mismos. Cada trabajo práctico deberá ser realizado exclusivamente por los autores, cualquier irregularidad será penalizada.

A lo largo de los años, muchos alumnos han comentado su necesidad de que en algún momento de la carrera sea posible lidiar con el análisis estadístico de datos recolectados con el fin de solucionar problemas reales. Por los comentarios escuchados pareciera que hay un consenso en que los ejercicios resueltos en clase, si bien son muy útiles para comprender e ilustrar las nuevas técnicas aprendidas, en cierto grado no llegan completamente a permitirle al alumno experimentar una práctica profesional más real, que refleje los desafíos que se les presentarán en el futuro, una vez recibidos. Este trabajo cuenta con datos reales recolectados por una institución cuyo objetivo era dar una respuesta a los objetivos planteados y que fueron cedidos generosamente para la realización de este trabajo práctico. Es importante mantener la **confidencialidad** de los mismos y no utilizarlos con otros fines sin una expresa autorización de la cátedra. Esta es una oportunidad valiosa para incorporar experiencia en la resolución de problemas mediante el uso de la estadística, a través de una práctica profesional supervisada por los profesores.