

Confección Manual de Micromatrices y Evaluación de las Secciones Obtenidas a partir de Tumores Mamarios Caninos.

Área del Conocimiento: Ciencias Agropecuarias

Becario/a: ALEGRE, Eduardo A.

Director/a: ROSCIANI, Adriana

Facultad: Ciencias Veterinarias

E-mail: eduaalegre@gmail.com

Objetivos

En este trabajo se busca describir un método manual para producir micromatrices (MMT) a partir de muestras de tumores de mamas caninos y validar sus posibilidades de aplicación para evaluar de forma más eficiente diferentes biomarcadores.

Materiales y Métodos

Para la confección de MMT, se seleccionaron 22 casos de tumores mamarios caninos, remitidos al Servicio de Diagnóstico Histopatológico y Citológico de la Facultad de Ciencias Veterinarias. Los mismos ya se encontraban procesados de acuerdo con la técnica histológica clásica, incluidos en parafina, cortados a 5um y coloreados con hematoxilina y eosina (HE) para la realización del diagnóstico de rutina. Estas muestras fueron analizadas y se localizó y delimitó el área más representativa del tumor con un marcador indeleble (Fig. 1 a). El proceso de ensamblaje de las MMT se basó en el método de Kononen (1998). Se empleó un punch de biopsia de piel de 5mm de diámetro, con el que se extrajo el área de interés (núcleo) de cada bloque donante y se alojó en el bloque receptor elaborado a partir de un molde de silicona flexible, siguiendo el número de caso y para facilitar la localización de cada una de las muestras en las secciones, se introdujo tejido adiposo como control en el orificio de un extremo del bloque receptor (Fig. 2). Una vez desarrollado el bloque se introdujo en estufa a 40°C para conseguir una correcta integración de los núcleos al bloque receptor. Se realizaron cortes seriados de 5um de cada bloque y se montaron sobre portaobjetos. Las muestras fueron coloreadas con HE (Fig. 3-a), y luego se compararon con las secciones completas de donde se obtuvieron los núcleos para confeccionar las MMT.

Se realizó el diagnóstico histopatológico (DH) de acuerdo con la Clasificación de Goldschmidt y col. (2011) y se determinó el grado de malignidad (GMH) en cada caso según el “Sistema de Graduación Histológica de Malignidad de los Carcinomas mamarios caninos y felinos”, propuesto por Misdorp (2002). Los resultados obtenidos del análisis en MMT y secciones clásicas, fueron comparados por medio de las pruebas de concordancia se utilizó el método estadístico de Kappa (K), con un nivel de confianza de 95%, para determinar el grado de concordancia entre ambas pruebas

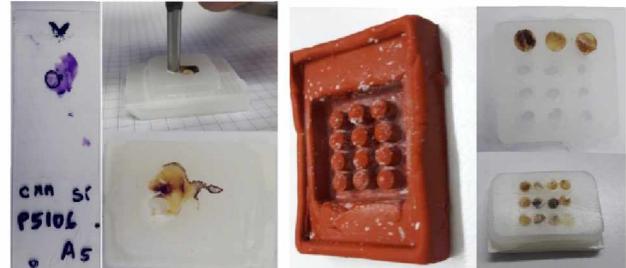


Figura 1. a) Área delimitada representativa del tumor. b) Extracción del núcleo del bloque donante.



Figura 2. Proceso de construcción del Bloque de MMT. Molde de silicona, bloque receptor con los núcleos de interés y bloque resultante con las MMT.

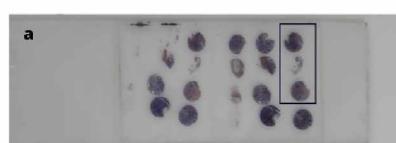


Figura 3. a) Corte obtenido de un bloque de MMT coloreado con HE.



b) Detalle de las MMT 4x.

Resultados y Discusión

La comparación entre las secciones coloreadas de los núcleos de las micromatrices (Fig. 3-b) y las áreas seleccionadas de los cortes clásicos de tejidos (Fig. 1-a), mostraron una concordancia buena para el diagnóstico histopatológico ($\kappa=0,7$) y fue muy buena para la determinación del grado de malignidad en ambas técnicas ($\kappa=0,8$). Los resultados mostraron buena concordancia entre los cortes obtenidos de las micromatrices y las secciones completas lo que sustenta la validez de esta técnica para realizar estudios en serie de manera económica, rápida y estandarizada.