



XXVI Comunicaciones Científicas y Tecnológicas

Orden Poster: CA-056 (ID: 2135)

Autor: Barrios, Mauricio Martin

Título: Determinación de ki67 a partir de micromatrices en neoplasias mamarias caninas

Director: Rosciani, Adriana Silvia

Palabras clave: ki67, valor pronóstico, sobrevida.

Área de Beca: Cs. Agropecuarias

Tipo Beca: Cyt - Iniciacion

Periodo: 01/03/2018 al 28/02/2021

Lugar de trabajo: Facultad De Cs. Veterinarias

Proyecto: (18B008) Sistemas de Graduación de valor predictivo en neoplasias mamarias caninas y consideración de la respuesta inmunitaria a los mismos.

Resumen:

Los tumores mamarios caninos tienen un comportamiento muy variable lo cual impide predecir el pronóstico de la paciente basándose solamente en datos histológicos y clínicos, por lo cual se buscan factores de valor pronóstico, algunos mediante el análisis inmunohistoquímico, como los marcadores de proliferación celular Ki67 y PCNA. La proliferación es una característica fundamental de los tumores. Ki67 es una proteína nuclear expresada desde la fase G1 a la fase M del ciclo celular. Muchos estudios han sugerido a Ki67 como un marcador molecular de confiable valor pronóstico en diversos grados de malignidad tumoral mediante inmunohistoquímica. La construcción de micromatrices de tejido permite una amplia serie de análisis como la histoquímica, la inmunohistoquímica, inmunofluorescencia y hasta la hibridización in situ para ADN ó ARN a su vez permite analizar múltiples muestras en paralelo ó realizar comparaciones entre cada análisis. El uso de micromatrices permite reducir el personal de laboratorio y de reactivos a utilizar permitiendo analizar hasta 100 muestras de tejido en un solo vidrio lo que a su vez ha ganado importancia en el campo del estudio de los tumores gracias a su eficacia para buscar marcadores de valor diagnóstico y pronóstico. Se analizaron neoplasias mamarias de 20 pacientes caninas afectadas espontáneamente y que fueron remitidas al Servicio de Diagnóstico Histopatológico y Citológico del Hospital Escuela de la Facultad de Ciencias Veterinarias, UNNE. Dichas pacientes fueron evaluadas clínica y radiológicamente, realizándose determinaciones bioquímicas prequirúrgicas, antes del tratamiento. Su evolución se corroboró cada dos meses, como parte del proyecto en curso y se determinó su sobrevida post quirúrgica 18 meses posteriores ó hasta su deceso. Las piezas quirúrgicas fueron estudiadas macroscópicamente y se procesaron según la técnica histológica clásica. Cada caso ha sido diagnosticado de acuerdo con la Clasificación de Tumores mamarios caninos (TH) establecida por Goldshmidt et al. (2011) y la determinación del Grado de Malignidad Histológica (GMH) se realizó siguiendo el "Sistema de Graduación Histológica de malignidad de los carcinomas mamarios caninos y felinos", propuesto por Misdorp (2002). Las áreas más representativas de cada corte histológico fueron seleccionadas para la caracterización de la proliferación teniendo en cuenta áreas con mayor celularidad tumoral (Hot spot).

Posteriormente las áreas identificadas en cortes teñidos con Hematoxilina-Eosina se hicieron coincidir con los bloques de parafina para identificar el área a extraer con punzón de biopsia. Se confeccionó un molde específico para el bloque "receptor" de las áreas a extraer de los tacos "donantes" que consta de 12 espacios para 12 muestras de pacientes.

Se realizó la objetivación de las áreas que demostraban proliferación celular por medio de la inmunomarcación de Ki67. Se determinó el porcentaje de células inmunomarcadas, en todos los casos el patrón de marcación es nuclear. Se contaron células positivas en tres campos de mayor aumento y se realizó un promedio del porcentaje de células marcadas. Se aplicó estadística descriptiva y se realizó el análisis de la varianza de los resultados de marcación obtenidos y las curvas de supervivencia de Kaplan-Meier. Mediante el programa InfoStat /Profesional. Del total de muestras procesadas solo 16 de ellas pudieron analizarse debido a la pérdida de material en la técnica inmunohistoquímica. De las muestras analizadas 14 mostraron marcación nuclear en diferentes porcentajes. En las curvas de sobrevida de Kaplan Meier se observaron diferencias significativas ($p = 0.002811$) entre grupos de diferente porcentaje de marcación a Ki67. En este estudio no se encontraron diferencias significativas teniendo en cuenta el grado histológico de malignidad y el porcentaje de marcación de Ki67 al contrario de lo que reportan Trihia et al., (2003) y Inwald et al. (2013). Probablemente, debido al escaso número de muestras consideradas. Se buscó aquí, implementar el procesamiento en micromatrices de tejido ya que la técnica aporta un tratamiento homogéneo para todas las muestras.