

## Determinación de ki67 a partir de Micromatrices en Neoplasias Mamarias Caninas

Área del Conocimiento: Ciencias Agropecuarias.

Becario/a: BARRIOS, Mauricio Martin

Director/a: ROSCIANI, Adriana Silvia

Facultad: Facultad de Ciencias Veterinarias

E-mail: mauriciomartinbarrios@gmail.com

### Objetivos

- \*Determinar el valor pronóstico de la inmunomarcación de ki67 en tumores mamarios caninos.
- \*Evaluar la eficacia de la técnica de confección de micromatrices para la realización de inmunomarcación.

### Materiales y Método

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. Previamente a la cirugía se realizaron los estudios pre quirúrgicos correspondientes, se realizó seguimiento cada 2 meses a las pacientes y se determinó su supervivencia postquirúrgica hasta los 18 meses ó su momento de 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 (Imagen 2). Se realizó la inmunomarcación con ki67 y se determinó el porcentaje de células inmunomarcadas, 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. (Di Rienzo *et al.*, 2015).

### Resultados y Discusión

Del total de muestras procesadas solo 16 de ellas pudieron estudiarse debido a la pérdida de material en la técnica inmunohistoquímica. De las muestras analizadas, 14 mostraron marcación nuclear (Imagen 1) en diferentes porcentajes.

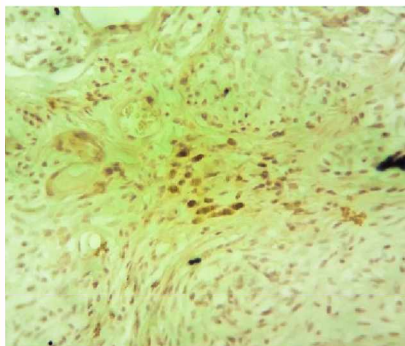
El porcentaje de células positivas según el TH, GMH y la supervivencia a 18 meses (Vivas y Muertas), se consignan en la tabla 1, se observaron diferencias significativas ( $p = 0.002811$ ) entre grupos de diferente porcentaje de marcación a Ki67.

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, determinar la eficacia del procesamiento de micromatrices en la técnica inmunohistoquímica ya que aporta un tratamiento homogéneo para todas las muestras (Parsons y Col. (2009).

**Tabla 1: Resultados de la inmunomarcación Ki67, según tipo histológico, grado de malignidad y supervivencia a 18 meses.**

Clasificación	Categorías	N° Casos	Promedio % Ki67	CV	p
Diagnóstico Histopatológico	CC	6	5.4	53	0.1
	CM	4	18.7	70	
	CSTP	1	30	0	
	CYMM	2	5	0	
	CP	1	5	0	
Grado de Malignidad	CST	1	30	0	0,8
	GMI	6	14	87	
	GMII	7	12	98	
Supervivencia a 18 meses	Vivas	8	6	47	0.002*
	Muertas	5	25	45	

\*: diferencias significativas



**Imagen 1.** Células positivas a la inmunomarcación con ki67 en el centro de la imagen. Patrón de marcación nuclear (400x)



**Imagen 2.** Técnica de micromatrices. A: molde "receptor". B: bloque "donante". C: Identificación de área seleccionada en corte histológico teñido con H-E.