

Criação de um banco de amostras tumorais – fase 3

Júlia Jarcovis Soares

Prof^a Dr. Julia Maria Matera

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia/ Universidade de São Paulo

julia.soares@usp.br

Objetivos

O objetivo deste projeto é disponibilizar amostras de tecidos neoplásicos, soro e material necessário para estudos genéticos de pacientes portadores de neoplasias, tanto benignas quanto malignas, incluindo também casos de metástases e recidivas, possibilitando pesquisas e estudos translacionais na área de oncologia veterinária.

Métodos e Procedimentos

Dos animais submetidos à ressecção cirúrgica de tumores foram coletados para o banco de tumores os seguintes itens: o maior número de amostras de 1cm³ de tecido neoplásico, evitando áreas infectadas, isquêmicas e/ou necrosadas e soro do animal em frascos estéreis sem anticoagulante. As amostras de tecido foram submetidas à dois tipos de fixação: Paraformaldeído 4% ou Glutaraldeído 2,5% e tetróxido de ósmio 1%; e posteriormente conservadas em álcool 70%. Outras amostras de tecido foram conservadas em criotubos no freezer a -80°C. As amostras de sangue foram centrifugadas a 5000rpm por 5 minutos para a obtenção do soro e estocadas em criotubos no freezer a -80°C. Após o processamento, as amostras são identificadas, contendo o número de protocolo do animal, nome, espécie, data da coleta e classificação do tumor.

Resultados

Foram coletadas amostras de 18 formações tumorais de 14 pacientes. Não havendo predomínio de sexo ou padrão racial, com idade entre 7 a 16 anos. Entre as neoformações obtivemos mastocitomas, adenomas perianais, lipomas, linfonodos

reativos, sarcoma de partes moles e hemangiosarcoma. Foram armazenadas 410 amostras no total, sendo: 118 fixadas em Paraformaldeído 4%; 266 fixadas em Glutaraldeído 2,5% e tetróxido de ósmio 1%; 10 amostras de tecido preservadas em criotubos e 10 amostras de soro criopreservadas.

Conclusões

As amostras foram processadas e armazenadas para possibilitar o maior número de estudos posteriores. As amostras fixadas em Paraformaldeído 4% viabilizam pesquisas com microscopia de luz, como: imunohistoquímica e ensaios de imunofluorescência. As amostras fixadas em Glutaraldeído 2,5% e tetróxido de ósmio 1% propiciam estudos de microscopia eletrônica de varredura e transmissão. Amostras criopreservadas -80°C permitem experimentos de citometria de fluxo, PCR e ensaios de imunofluorescência. O soro criopreservado permite a análise do perfil bioquímico e testes sorológicos.

Sendo assim, este estudo possibilita mais de 20 tipos de análises futuras diferentes a cerca das formações tumorais. Portanto, este pode colaborar para estabelecer classificações tumorais mais precisas, novos protocolos, possíveis descobertas de fármacos, entre outras diversas possibilidades para fomentar os avanços na Oncologia Veterinária.

Referências Bibliográficas

ALIMENA, L.J. et al. Protocolo de um banco de tecidos neoplásicos. Rev. Bras. Ortop., MOCDS, n.43, vol.3, 2008.
CARVALHO, Lina et al. Banco de Tumores. Acta Med Port, p. 325-333, Coimbra, 2007.

Maintenance of a tumor sample bank – period 3

Júlia Jarcovis Soares

Prof. Julia Maria Matera

School of Veterinary Medicine and Animal Science/ University of São Paulo

julia.soares@usp.br

Objectives

The objective of this project is to provide samples of neoplastic tissues, serum and material necessary for genetic studies of patients with neoplasms, both benign and malignant, including cases of metastases and recurrences, enabling research and translational studies in veterinary oncology.

Materials and Methods

From the animals submitted to surgical resection of tumors, the following items were collected for the tumor bank: the largest number of 1 cm³ samples of neoplastic tissue, avoiding infected, ischemic and / or necrotic areas and the animal's serum in sterile vials without anticoagulant. The tissue samples were subjected to two types of fixation: Paraformaldehyde 4% or Glutaraldehyde 2.5% and osmium tetroxide 1%; and then preserved in 70% alcohol. Other tissue samples were stored in cryovials in the freezer at -80 ° C. The blood samples were centrifuged at 5000 rpm for 5 minutes to obtain the serum and stored in cryovials in the freezer at -80 ° C. After processing, the samples are identified, containing the animal's protocol number, name, species, date of collection and tumor classification.

Results

Samples of 18 tumor formations were collected from 14 patients. There was no predominance of sex or racial pattern, aged 7 to 16 years. Among the neoformations were obtained: mastocytomas, perianal adenomas, lipomas, reactive lymph nodes, soft tissue sarcoma and

hemangiosarcoma. A total of 410 samples were stored, namely: 118 samples fixed in 4% Paraformaldehyde; 266 samples fixed in Glutaraldehyde 2.5% and osmium tetroxide 1%; 10 tissue samples preserved in cryotubes and 10 samples of cryopreserved serum.

Conclusions

The samples were processed and stored to allow the greatest number of further studies. The samples fixed in Paraformaldehyde 4% allow research with light microscopy, such as: immunohistochemistry and immunofluorescence assays. The samples fixed in 2.5% Glutaraldehyde and 1% osmium tetroxide provide scanning and transmission electron microscopy studies. Cryopreserved samples -80 ° C allow flow cytometry, PCR and immunofluorescence assays. The cryopreserved serum allows the analysis of the biochemical profile and serological tests. Therefore, this study allows more than 20 different types of future analyzes about tumor formations. So, it can collaborate to establish more accurate tumor classifications, new protocols, possible drug discoveries, among other diverse possibilities to foster advances in Veterinary Oncology.

References

- ALIMENA, L.J. et al. Protocolo de um banco de tecidos neoplásicos. Rev. Bras. Ortop., MOCDs, n.43, vol.3, 2008.
- CARVALHO, Lina et al. Banco de Tumores. Acta Med Port, p. 325-333, Coimbra, 2007