

2016 Diciembre, 6(5): 1-1

DESARROLLO DE UN MODELO MURINO DE LINFOMA

Bergna C., González P.H., Maíz M., Schiffrin E., Ponzinibbio C.

Cátedra de Patología B

cbergna@live.com.ar

Introducción

Los modelos de neoplasias hematológicas murinas pueden homologarse a las humanas dadas similitudes anatómicas, inmunológicas y genéticas entre ambas especies, constituyendo una valiosa herramienta para conocer su fisiopatogenia y ensayar nuevas modalidades terapéuticas. Los linfomas murinos pueden desarrollarse espontáneamente o inducirse por radiaciones, retrovirus, químicos o ingeniería genética. Se presentan las características de un linfoma que ha logrado ser establecido como modelo experimental a partir del hallazgo fortuito de un linfoma espontáneo en un ratón de la cepa Balb/c.

Objetivos

Desarrollo del modelo experimental de linfoma murino, caracterización histológica e inmunofenotípica.

Metodología Aplicada

Del hallazgo de un linfoma espontáneo en un ratón de la cepa Balb/c, se obtuvieron células neoplásicas provenientes de sus ganglios linfáticos inguinales, axilares y cervicales y se procesaron por atrición mecánica y filtrado por malla metálica. De la suspensión celular obtenida, se inocularon 3×10^7 células nucleadas por vía intraperitoneal a ratones machos endocriados de la misma cepa. El modelo se mantuvo mediante pasajes sucesivos a ratones sanos que fueron mantenidos en condiciones de esterilidad hasta el desarrollo de adenomegalias visibles y palpables. Este protocolo fue aprobado por el Comité Institucional del Cuidado de Animales de Laboratorio de la Facultad de Medicina de la UNLP. Se determinaron características clínicas y la sobrevida mediante análisis de Kaplan Meier. Se caracterizó su histología en cortes parafinados teñidos con hematoxilina-eosina y se realizó el análisis morfométrico citohistológico de impronta ganglionar teñida con May Grundwald-Giemsa. Asimismo, se analizó la expresión inmunofenotípica del linfoma en muestras parafinadas de ganglio linfático mediante inmunohistoquímica utilizando los anticuerpos monoclonales murinos anti CD45R-B220 de rata, como marcador linfoide B, y anti-CD3ε epsilon de conejo (ThermoFischer Scientific), como marcador linfoide T. Según validaciones previas todos estos anticuerpos reaccionan con antígenos murinos. Finalmente, las imágenes fueron digitalizadas con el escáner NanoZoomer (Hamamatsu).

Resultados

Los animales desarrollaron adenomegalias generalizadas, esplenomegalia, anemia y erizamiento del pelo desde la primer semana de inoculación. En fases avanzadas aparecieron alteraciones del comportamiento, postura y signos neurológicos. La mediana de sobrevida de los ratones que desarrollaron el linfoma fue de 25 días, con un rango entre 20 y 29 días.

En la necropsia se evidenciaron adenomegalias generalizadas y esplenomegalia con presencia de punteado blanquecino con tendencia a la coalescencia. Otros parénquimas hígado, riñones, timo se afectaron de forma variable haciéndose visibles por agrandamiento difuso del órgano en cuestión. En algunos animales se observaron masas tumorales retroperitoneales.

El análisis morfométrico reveló la presencia de poblaciones celulares de pequeño y mediano tamaño (promedios de diámetro $8,96 \mu\text{m}$ y área celular $76,74 \mu\text{m}^2$), con escaso citoplasma basófilo agranular, núcleos indentados de cromatina laxa y nucléolos centrales de aspecto linfoblástico. La ocupación histológica demostró afectación difusa en ganglio linfático (100%), bazo (70%) y de médula ósea (100%) con afectación focal perivascular en órganos no linfoides (hígado, riñón, sistema nervioso). Se observaron aproximadamente 25 figuras mitóticas por campo grande de 400x. La presencia de células atípicas circulantes fue variable. La expresión de CD3 fue intensa y difusa en toda la estructura ganglionar mientras que la expresión de CD45R/B220 fue débil y limitada a parches periféricos.

Conclusiones

Se presenta un modelo establecido de linfoma murino de células T, de desarrollo espontáneo y comportamiento clínico agresivo, conformadas por células de pequeño y mediano tamaño y alto índice mitótico. El mismo presentó compromiso difuso en órganos linfoides y afectación focal en órganos no linfoides, con presencia inconstante de células atípicas en sangre periférica.