



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

**ESTUDIO RETROSPETIVO Y CLASIFICACIÓN
DE LOS LINFOMAS SEGÚN SU LINAJE (B o
T) A TRAVÉS DE INMUNOMARCADORES
EN VEINTINUEVE (29) CASOS DEL
LABORATORIO DE PATOLOGÍA
VETERINARIA EN LOS AÑOS
COMPRENDIDOS ENTRE 2010-2017**

Natalia Alejandra Cortés Ramirez

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
Bogotá, Colombia
2018

**ESTUDIO RETROSPETIVO Y CLASIFICACIÓN DE
LOS LINFOMAS SEGÚN SU LINAJE (B o T) A
TRAVES DE INMUNOMARCADORES EN
VEINTINUEVE (29) CASOS DEL LABORATORIO DE
PATOLOGIA VETERINARIA EN LOS AÑOS
COMPENDIDOS ENTRE 2010-2017**

Natalia Alejandra Cortés Ramirez

Trabajo de investigación presentada(o) como requisito parcial para optar al título de:
Especialidad en Anatomopatología Veterinaria

Directora:

MV, Msc, Ph.D. Lucia Botero Espinosa

Línea de Investigación:

Salud Animal

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
Bogotá, Colombia

2018

ESTUDIO RETROSPETIVO Y CLASIFICACIÓN DE LOS LINFOMAS SEGÚN SU LINAJE (B o T) A TRAVÉS DE INMUNOMARCADORES EN VEINTINUEVE (29) CASOS DEL LABORATORIO DE PATOLOGÍA VETERINARIA EN LOS AÑOS COMPRENDIDOS ENTRE 2010-2017

Cortés N y Botero L

RESUMEN:

Se realizó un estudio retrospectivo con veintinueve (29) casos de caninos diagnosticados previamente como Linfomas o como neoplasias malignas de células redondas, recolectados durante 7 años (2010 al 2017) en el Laboratorio de Patología Veterinaria de la Universidad Nacional - LNDV. Posteriormente se procedió a la marcación Inmunohistoquímica con dos marcadores (CD3 Y CD79a) para determinar el fenotipo y luego de la evaluación microscópicas y siguiendo los criterios diagnósticos de Valli et al, 2011, las 29 neoplasias fueron reclasificadas, encontrando en primero lugar que la mayoría de casos fueron diagnosticadas como neoplasias de células T (72%, 21/29), además en 7 casos de 29 fue imposible determinar su linaje ya que marcaron para ambos marcadores. Finalmente se pudieron comparar los resultados emitidos con los presentes diagnósticos según la clasificación de Valli et al, 2011 y se encontró que la citología celular más el patrón arquitectónico en algunos casos es un buen indicador del tipo de Linfoma, sin embargo el inmunofenotipo es fundamental para emitir el diagnóstico final.

Palabras claves: linfoma, caninos, inmunohistoquímica, clasificación.

INTRODUCCIÓN

Los linfomas son las neoplasias hematopoyéticas malignas más frecuentes en perros y gatos (Valli et al. 2011; Aniolek et al. 2014). Su incidencia es aproximadamente de 20 a 100 casos en 100,000 caninos (Zandvliet 2016). Estos tumores tienen diferentes tipos de presentación clínica (multicéntrico, tímico o mediastínico, gastrointestinal, cutáneo, extranodal, entre otros) ya que involucra cualquier tejido que contenga al menos un agregado linfoide. Puede afectar a cualquier edad pero la mayoría de casos se presentan entre los 5 y los 11 años (Valli et al. 1981; Valli et al. 2011), afectando principalmente a Razas de gran

tamaño. Actualmente el sistema de clasificación empleado es una reestructuración de la clasificación de la organización mundial de la salud por sus siglas en inglés WHO para neoplasias de origen hematopoyético y los modelos anteriormente utilizados que combinan la inmunofenotipificación, características citológicas y arquitectónicas (Valli et al. 2011; Frantz et al. 2013).

Histológicamente los linfomas son neoplasias de células redondas, se describen como foliculares, marginales, de manto o difusos según su origen en el nódulo linfoide (Valli et al, 2011, Frantz et al, 2012; Valli et al, 2013). En adición, se evalúa el patrón de crecimiento, la morfología nuclear (patrón de cromatina, número y localización de los nucléolos), tamaño nuclear respecto al tamaño de un eritrocito promedio; definiéndose tres tamaños: en primer lugar células pequeñas (núcleo entre 1 a 1.5 veces un eritrocito); células medianas (~1,5 veces el diámetro de un eritrocito) y por último en células grandes (2 veces más grande que un eritrocito promedio) (Valli et al, 2011). El índice mitótico es otro parámetro a evaluar y se define como la cantidad de figuras mitóticas en 10 campos de 400x, los campos elegidos deben ser los que expresen una mayor actividad replicativa. En humanos se ha demostrado que el comportamiento biológico se relaciona con el número de mitosis y puede ser señalado como: bajo grado (0 a 5 mitosis por campo), grado intermedio (6 a 10 mitosis por campo) y alto grado (> 10 mitosis por campo) (Valli et al. 2011; Frantz et al. 2013).

Para el diagnóstico y pronóstico del linfoma es necesario el uso de diversos métodos diagnósticos como la citología, La histopatología, Inmunohistoquímica, pruebas de clonalidad – PCR y citometría de flujo. La Inmunohistoquímica es una herramienta

básica para determinar el linaje, por lo general los linfomas de células T (TCL) se asocian con un pronóstico menos favorable con respecto al linfoma de células B (BCL) (Teske et al, 1994, Marconato et al, 2011; Valli et al, 2013). Pero esta no es la única herramienta se deben correlacionar a su vez con la morfología celular que arroja datos importantes para su tipificación. No se conoce la razón por la cual el comportamiento entre los linajes es diferente; pero se tiene la certeza que el inmunofenotipo no es suficiente para predecir pronóstico (Ponce et al. 2004; Rao et al. 2011; Frantz et al. 2013)

A través del uso de marcadores Inmunohistoquímicos el objetivo de este estudio es establecer la clasificación completa de veinte y nueve (29) casos de Linfoma en caninos según su linaje (B o T) recolectados durante 7 años en el Laboratorio de Patología Veterinaria de la Universidad Nacional de Colombia - LNPV teniendo en cuenta la clasificación de Valli et al, 2011 y la WHO además de conocer otros datos que nos permitan conocer el comportamiento de esta entidad neoplásica en el entorno nacional.

MATERIALES Y MÉTODOS

Selección de casos

Se revisó la casuística recibida en el LPV entre los años 2010 y 2017, para seleccionar todos los casos con diagnóstico final de Linfoma o neoplasias de células redondas que tenían entre sus diagnósticos diferenciales más probables linfoma. Entre los criterios de selección para este estudio se tomaron casos exclusivamente de caninos previamente diagnosticados con linfoma por histopatología, además se

colectaron datos epidemiológicos como: raza, edad, sexo y signos clínicos. Los casos recolectados provenían de biopsias incisionales de ganglios linfáticos y tejidos provenientes de necropsias. Estas muestras fueron fijadas en su momento en formalina bufferada al 10 % y posteriormente se procesaron por la técnica de rutina para hematoxilina y eosina (H&E). Los bloques de parafina de estas muestras se almacenaron y conservaron en el LPV. El número total de casos seleccionados fue de veintinueve.

Inmunofenotipificación

Todos los casos fueron procesados para marcación inmunohistoquímica para antígeno de células B (CD79a) y células T (CD3). Las muestras se procesaron en el Laboratorio Immunotech. Se usaron los anticuerpos primarios anti-CD79a (CLONE11D10) y anti CD3 (CLONE: LN10) ambos marca Leica® y posteriormente se utilizó el kit de detección- Novolink™ de la marca Leica®. Terminada la inmunomarcación se hizo coloración de contraste con hematoxilina y eosina (H&E). Para todos los casos se hicieron las dos pruebas inmunohistoquímicas.

Clasificación histológica

Los linfomas se clasificaron según lo reportado por Valli et al, 2011, tomando en cuenta tres criterios. 1) Inmunofenotipo, 2) arquitectura 3) morfología celular. El primer paso fue examinar las láminas para clasificar los tumores por inmunofenotipo, a continuación se clasificaron teniendo en cuenta la arquitectura y la morfología celular.

Comparación con resultados previos

Después de realizar la nueva categorización se compararon estos resultados con los emitidos por el laboratorio anteriormente.

RESULTADOS

Dentro de las consideraciones generales incluidas se pudo determinar que las razas frecuentes para la presentación de linfoma fueron la mestiza con un 24% (7/ 29) y Labradore Retriver con un 10,3%, (3/ 29) (Fig. 1), seguidas de la raza Bulldog, Bóxer y French Poodle con 6,9% de los casos (2/29). Las razas restantes tuvieron un 3,4% de presentación.

En cuanto a la edad el rango comprendido entre los 6 a 15 años fue el más afectado con 16 caninos (55%), seguido del rango 1-5 años con 31% / (9/29) y finalmente el rango con menor presentación de tumores fue el de los caninos mayores de 10 años con un 14% (4/29) (Fig. 2). En este estudio el porcentaje de hembras (59%, 17/29) remitidas fue mayor con respecto a la cantidad de machos (11/ 29), uno de los casos no tuvo información. El 83% de las muestras utilizadas para este estudio provenían de biopsias (24/ 29), y el 17% restante se tomó de casos de necropsia.

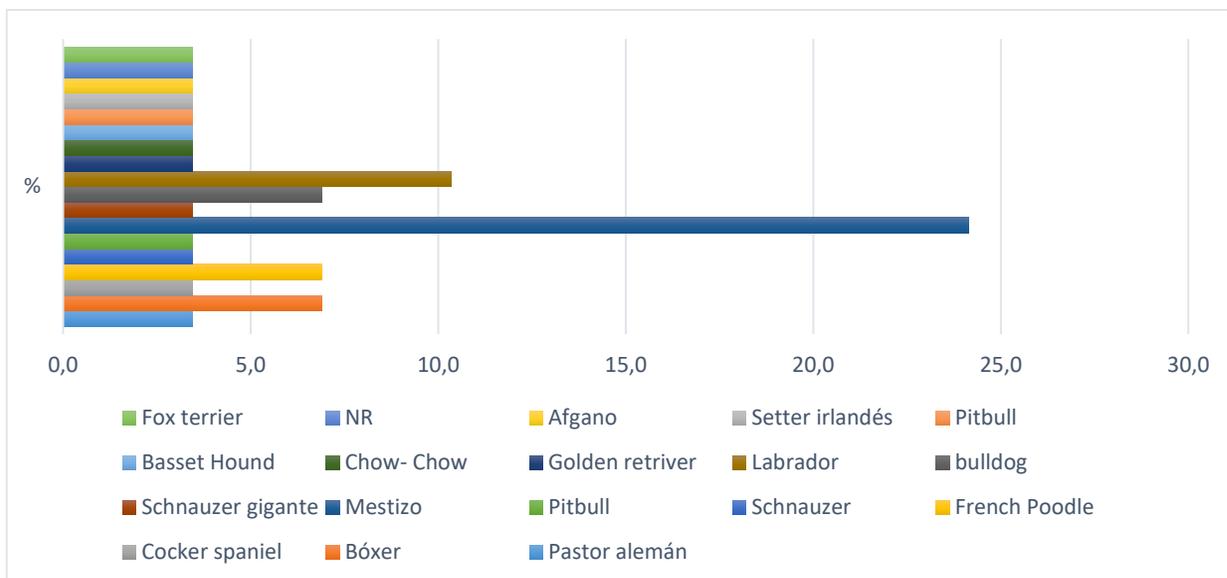


Figura 1. Razas que presentaron Linfoma.

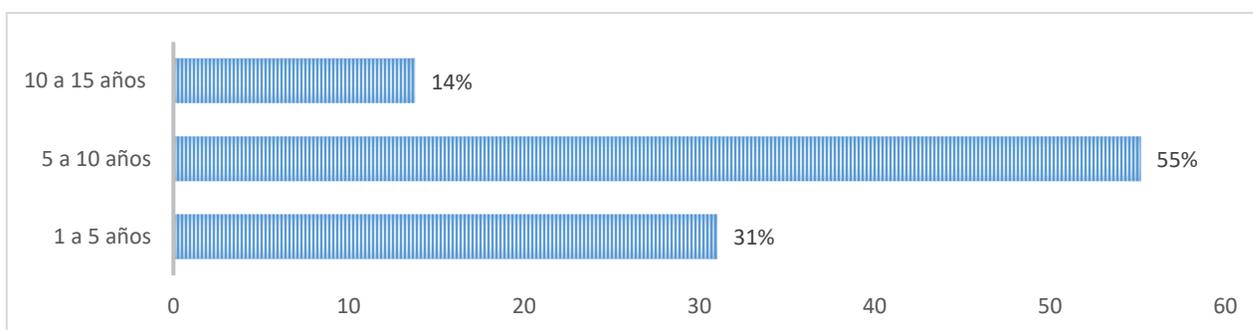


Figura 2. Rango de edades de presentación de Linfoma.

Sitios de presentación

En la figura 3 se presentan los sitios anatómicos más frecuentes de ubicación de las neoplasias. Como puede observarse el sitio más frecuente fue el ganglio linfático con un 31% (9 de 29) de los tumores, seguido del bazo y la presentación multicéntrico con 6 de 29 casos (20,7%) respectivamente, otro de las sitios más usuales de presentación fue la piel con 13,8% (4/ 29 casos).

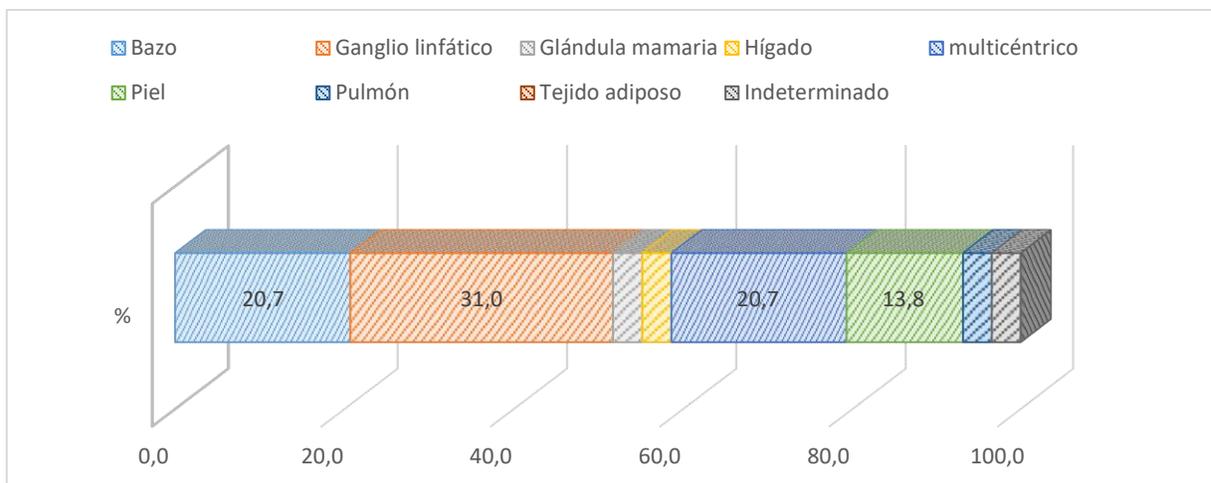


Figura 3. Localización anatómica de los tumores en 29 casos.

Clasificación

Utilizando el sistema reportado por Valli et al, 2011, se encontró que la mayoría de linfomas eran de células T 72 % (21/29) y únicamente una masa (3%) fue clasificada como linfoma de célula B. El 24% (7 de 29) restante no pudo ser clasificado debido a que mostraban una marcación similar para CD3 Y CD79a por lo tanto se denominaron linfomas heterogéneos. En la tabla 1 se presenta la clasificación morfológica propuesta.

Tabla 1. Tipos de Linfomas encontrados en este estudio – según la clasificación de Valli et al, 2011 y WHO.

TIPO DE LINFOMA	%
Linfoma de células T periféricas - PTCL	34
Linfoma nodal de células T	17
Leucemia/linfoma linfoblástico de células T	14
Linfoma difuso	14
Linfoma de zona marginal -MZL	10
Linfoma anaplásico de células grandes T - ALCL	3
Linfoma de zona T - TZL	3
Micosis Fungoide - MF	3

Como se muestra en la tabla 1, el tipo de linfoma más frecuente fue el de células T periférico (PTCL) con un 34% de los casos (10/29). En este tipo se incluyen los tumores que no pueden ser diferenciados en base a su topografía o morfología celular. En general se caracterizan por una proliferación neoplásica difusa de células T, con pérdida de la arquitectura de los folículos linfoides, con heterogeneidad morfológica extensiva. Las células tienen citoplasma abundante y pálido, con varios grados de pleomorfismo nuclear, un solo nucléolo distintivo con cromatina fina y condensada a la periferia. El índice mitótico es muy variable. Dos de los casos tuvieron presentación multicéntrica presentándose en GL, bazo, hígado y pulmón (Fig. 4 A-D). En algunos casos estaban acompañados de una evidente angiogénesis y focos de necrosis. En segundo lugar de frecuencia se ubicó el linfoma nodal de células T con 5 de 29 casos (21%) el cual arquitectonicamente muestra un patrón de expansión paracortical a manera de nódulos con compromiso de senos subcapsulares y el tejido adyacente. En cuanto a la citología las células exhiben variabilidad de su tamaño, como células intermedias y un núcleo oval o clivado, la tasa mitótica es variable con nucléolos variables en número y tamaño (Fig. 4 E-H).

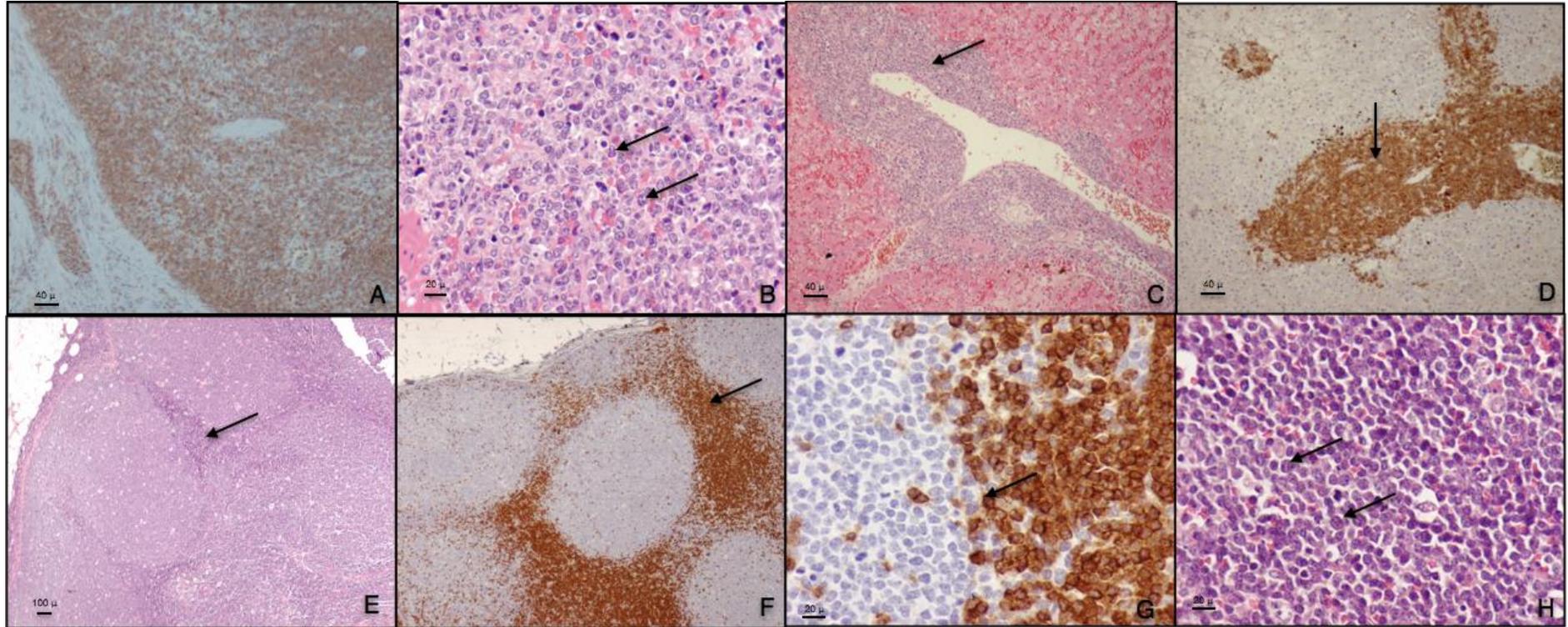


Figura 4. Figura A – D: Linfoma periférico de células T – PTCL. (A) Fuerte marcación inmunohistoquímica positiva para el marcador CD3 en Bazo. (B) Bazo: morfológicamente las células son pequeñas, redondeadas de citoplasma escaso anfófilico con núcleos redondeados e hiperromáticos, algunos con la cromatina condensada a la periferia y un nucléolo central evidente (flechas). (C) Hígado: Proliferación neoplásica extensiva alrededor de la triada portal (flechas). (D) Marcación Inmunohistoquímica positiva para el marcador CD3 alrededor de la triada portal. Figura E – H: Linfoma nodal de células T. (E) Ganglio linfático: expansión neoplásica a manera de nódulos desde la región paracortical (flecha). (F) Marcación Inmunohistoquímica positiva para el marcador CD3 en Ganglio linfático en las zonas señaladas en la figura 4E (flecha). (G) Marcación intracitoplasmática positiva marcador CD3 (flecha). (H) Ganglio linfático: células de tamaño intermedio (1.5 eritrocitos en diámetro con respecto al diámetro nuclear), de morfología redondeadas con citoplasma escaso basófilico tenue, núcleos hiperromáticos y cromatina gruesa sin nucléolos evidentes.

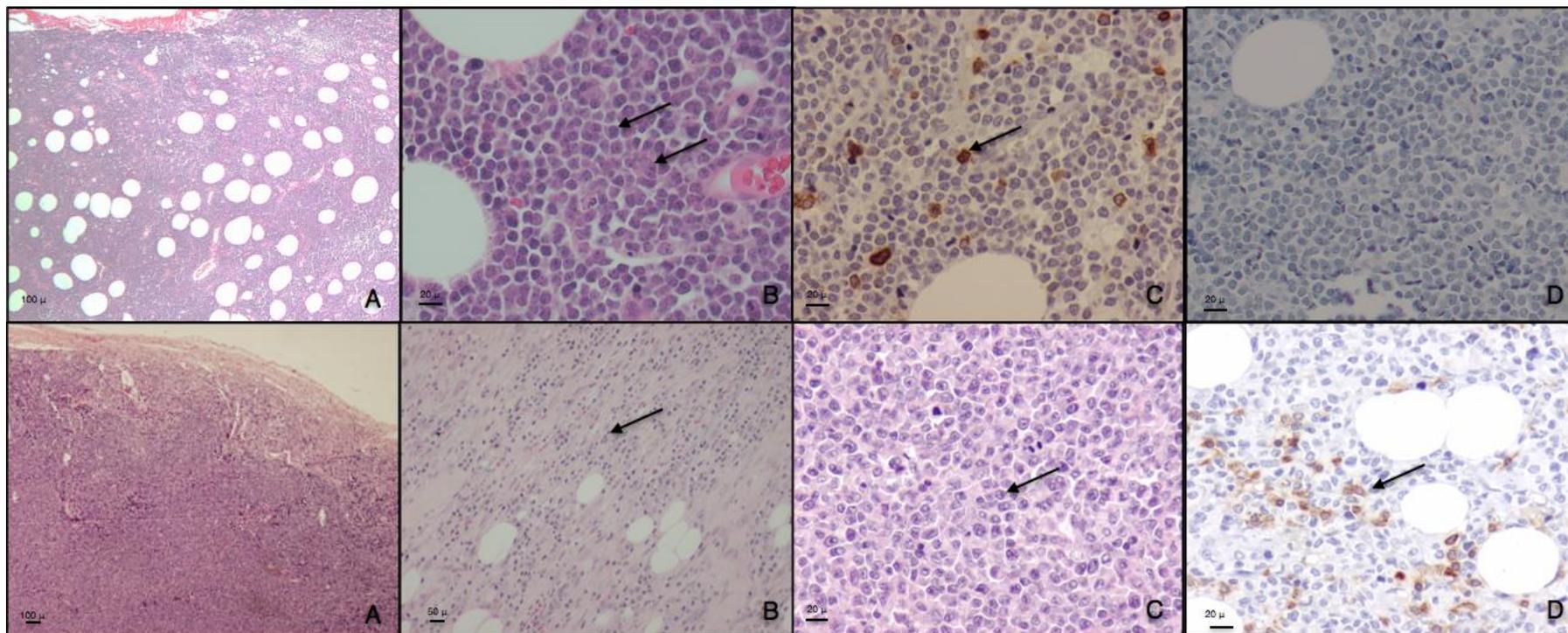


Figura 5. Figura A –D: Leucemia/Linfoma Linfoblástico de células T - LBL. (A) Ganglio linfático: adelgazamiento irregular de la capsula con invasión difusa de zona cortical y paracortical. (B) Ganglio linfático: células de tamaño intermedio (1.5 eritrocitos de diámetro con respecto al tamaño nuclear), núcleos redondeados u ovalados y cromatina gruesa hiper cromatica (flechas). (C) Marcación positiva de algunas células linfoideas neoplásicas para el marcador CD3 (flecha). (D) las células linfoideas neoplásicas no exhiben ninguna marcación para el inmunomarcador CD79a. Figura E – H. (E) Ganglio linfático: crecimiento neoplásico difuso sin un patrón determinado que comprime el seno subcapsular. (F) Ganglio linfático: invasión neoplásica en el tejido adiposo adyacente (flecha). (G) Ganglio linfático: citológicamente el tamaño celular variable; morfología redondeada y ovalada, núcleos redondeados con cromatina fina granular condensada a la periferia, nucléolo central evidente y en algunas se observan ligeras indentaciones nucleares.

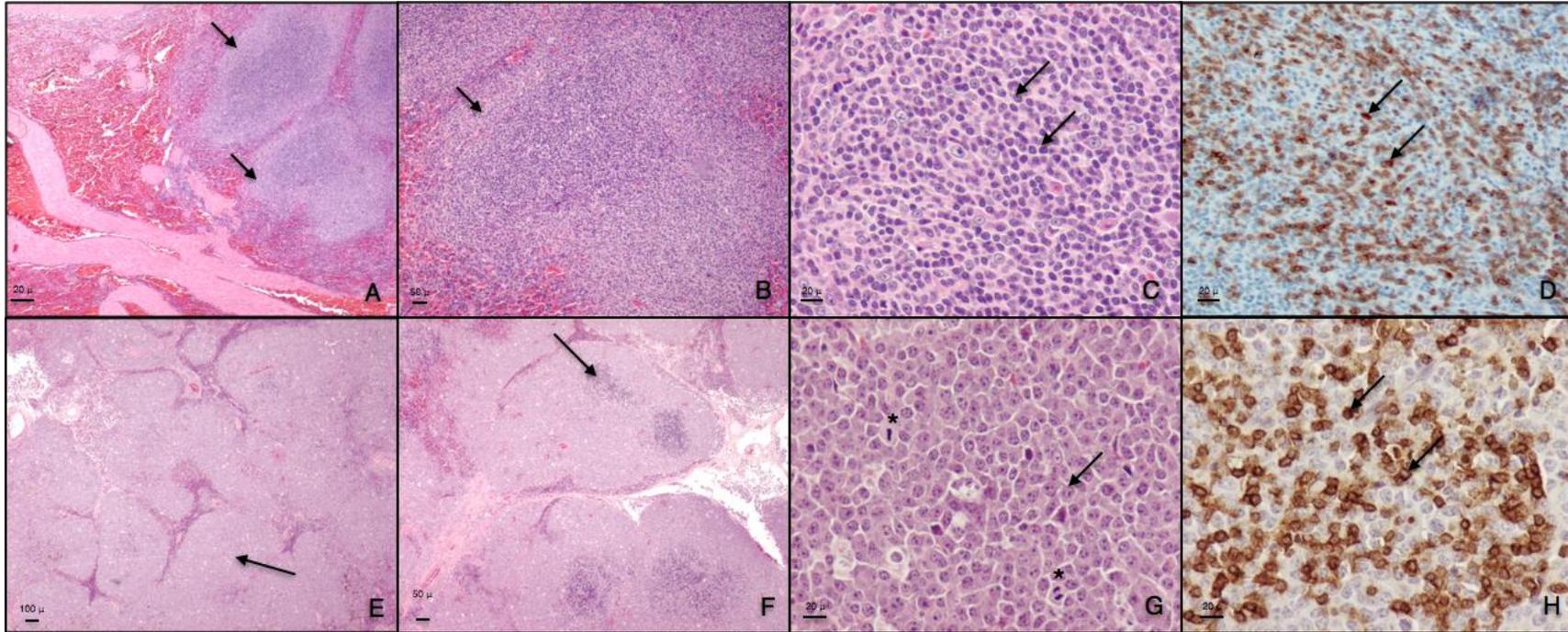


Figura 6. Figura A – D: Linfoma de Zona Marginal – MZL. (A) Bazo: proliferación neoplásica a manera de nódulos de la zona marginal que tienden a coalescer y ejerce presión sobre las estructuras trabeculares. (B) Bazo: el crecimiento de la zona marginal (flecha) colabora al desvanecimiento de los centros germinales. (C) células de tamaño pequeño e intermedio con núcleos redondeados hiper Cromáticos y citoplasma eosinofílico tenue escaso (flechas). (D) Marcación positiva de la mayoría de células Neoplásicas para el marcador CD79a (flechas). Figuras E-H: Linfoma anaplásico de células grandes T – ALCL. (E) Ganglio linfático: expansión neoplásica focalmente extensa que involucra corteza y medula a manera de nódulos de diferentes tamaños (flecha). (F) Ganglio linfático: las zonas más oscuras (flecha) señalan la atrofia de los centros germinales. (G) citológicamente, las células son de gran tamaño, límites citoplasmáticos ligeramente distinguibles, citoplasma eosinofílico abundante, núcleos redondeados, reniformes y piriformes, cromatina fina granular condensada a la periferia, múltiples nucléolos de diferentes tamaños (flecha) y abundantes figuras mitóticas aberrantes (asteriscos). (H) Inmunomarcación positiva generalizada para el marcador CD3.

Figura 7: Figuras A- D: Micosis fungoide (A) Piel: crecimiento neoplásico de células redondas compuesta por una población monomórfica densamente celular con un patrón de crecimiento infiltrativo en dermis superficial y en epidermis formando cavidades interepiteliales conteniendo células neoplásicas – microabscesos de Pautrier. (B) Invasión folicular y destrucción de la estructura por el infiltrado neoplásico (flecha). (C) células pequeñas, núcleos redondeados y pequeños algunos arriñonados, algunos hendidos, cromatina gruesa Hiper Cromática. (D) Marcación positiva generalizada de células neoplásicas en epidermis y dermis para el marcador CD3. Figura E- H: Linfoma de zona T. (E) Ganglio linfático: proliferación neoplásica que se origina de la zona paracortical a manera de nódulos y se extiende hasta la zona medular, obliterando el espacio de los centro germinales (flecha). (F) células pequeñas e intermedias en tamaño, con núcleos redondeados de cromatina gruesa e hiper cromáticos sin nucléolos evidentes (flechas). (G) fuerte marcación positiva de las células neoplásicas al marcador CD3 a excepción de las células que corresponde n al área B. (H) leve marcación para el marcador CD79a de las células del centro germinal.

En el tercer lugar de frecuencia se describió el Linfoma Leucemia/Linfoma linfoblastico de células T - T-LBL (14% (4/29)) se observó como un tumor de GL, con patrón de proliferación difusa, con compromiso de la cápsula e invasión y pérdida de senos subcapsulares y medulares. Hacia el centro del ganglio se vieron áreas de necrosis. Las células se caracterizaron por ser redondas u ovaladas, de tamaño intermedio, núcleos redondeados, hipercromáticos, con cromatina gruesa y alta tasa mitótica y fue positivo al marcador CD3 (linaje T) (Fig. 5 A-D).

El siguiente tipo descrito fue el linfoma difuso (14 % (4/ 29)), aquí se incluyen aquellos casos que no pudieron ser correctamente clasificados por que marcaban positivamente para los dos marcadores, adicionalmente no se podía determinar con exactitud su lugar de origen en el ganglio linfático o por su localización en otros órganos. Sus características son variables pero principalmente exhiben un tamaño celular pequeño, núcleos redondeados hipercromáticos y nucléolos indistinguibles (Fig. 5 E-H).

El linfoma de zona marginal (MZL) con 10% (3/29) fue otro descrito, se caracterizó por formar agregados de células neoplásicas que se originan zona marginal y su crecimiento atrofia y desaparece los centros germinales, además ejerce un efecto compresivo sobre la cápsula produciendo su adelgazamiento. Citológicamente las células son de tamaño intermedio, con citoplasma eosinofílico, núcleos redondos u ovalados, de un tamaño intermedio con un nucléolo central prominente (Fig. 6 A-D).

Los tipos menos encontrados con un 3% de presentación (1/29) fueron Linfoma anaplásico de células grandes T (ALCL), la micosis fungoide (MF) y el linfoma de

zona T (TZL). El primero Linfoma anaplásico de células grandes T- ALCL se caracterizó por tener un crecimiento difuso y extensivo con pérdida severa de la arquitectura, las células presentaban un gran tamaño (> 2 eritrocitos de diámetro nuclear), abundante citoplasma de tonalidad eosinofílica y basofílica tenue, límites ligeramente distinguibles, núcleos de morfología variable entre los cuales se destacan: reniformes, vesiculados, redondeados e irregulares, cromatina fina granular condensada a la periferia y múltiples nucléolos de diferentes tamaños (Fig. 6. E-H). El segundo pertenece a los linfomas cutáneos epiteliotrópicos, histológicamente se evidenció un crecimiento neoplásico con tropismo marcado por la epidermis y las estructuras anexas. Estaba compuesto por una población monomórfica de células intermedias, núcleos ovalados con cromatina dispersada y nucléolo indistinguible. Un hallazgo clave fue la presencia de cavidades interepiteliales con abundante cantidad de linfocitos neoplásicos, los llamados microabscesos de Pautrier. El tumor observado presentaba úlceras extensas (Fig. 7 A-D). Por último el TZL se reconoció como una neoplasia cuyas células se expandían desde la paracorteza e involucraban los cordones medulares sin perder la arquitectura nodular, no se evidenció compromiso del tejido perinodal ni tampoco del seno subcapsular. Las células eran pequeñas a intermedias en tamaño, con núcleos redondeados hipercromáticos sin nucléolos evidentes (Fig. 7 A-D). Como dato complementario en la figura 12 es posible observar que la mayoría de los casos evaluados muestran un alto índice mitótico (>10 mitosis en 10 campos de alto poder).

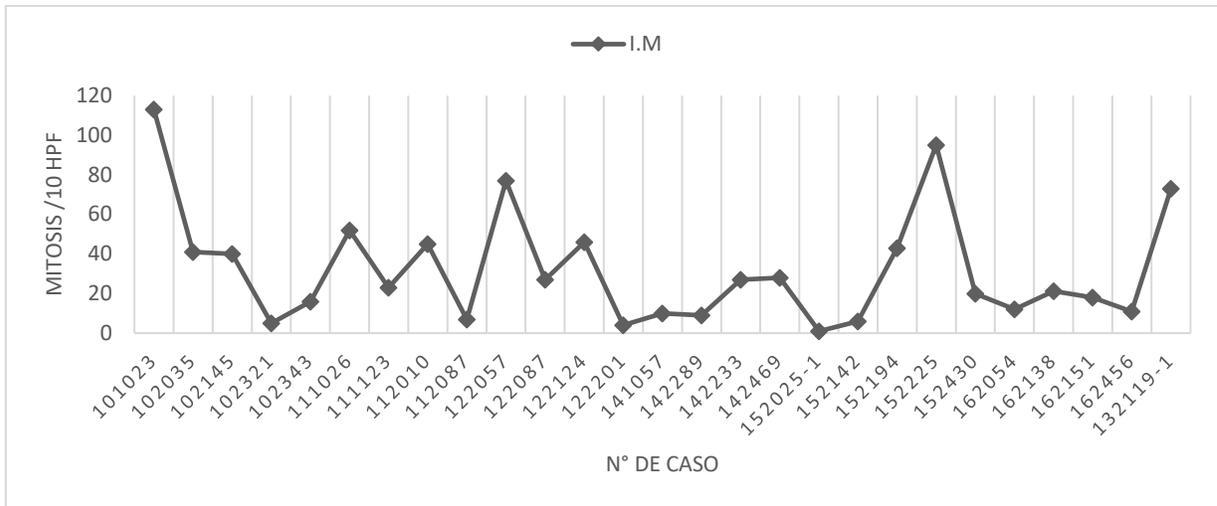


Figura 8. Relación del índice mitótico y los casos estudiados.

Comparación con resultados previos

Todos los casos seleccionados en este período tenían un diagnóstico morfológico de linfoma y algunos intentaban una clasificación morfológica, tomando algunas características arquitectónicas y citológicas. En la tabla 2 se presenta una comparación entre el diagnóstico definido en este estudio (diagnóstico actual) y el emitido por el Laboratorio previamente (diagnóstico previo). Al hacer esta comparación se evidenció que únicamente un diagnóstico actual concuerda perfectamente con el definido previamente, se trata del linfoma linfoblástico de células T o como los describieron linfoma linfoblástico de precursores T, este diagnóstico efectuado únicamente con descripción morfológica sin realizar prueba inmunohistoquímica para fenotipo. Trece de veintinueve casos presentaron moderada correlación entre los resultados actuales y previo, principalmente en el patrón arquitectónico. Algunos se diagnosticaron como linfomas difusos pero ya que no se les realizó el inmunofenotipo en el examen previo, no es posible saber si

son B, T o heterogéneos. Cinco de los 29 casos no correspondieron con el diagnóstico final y tres de los casos fueron clasificados de manera general como linfomas sin analizar las características respectivas siendo esta una clasificación y a otros tres se les dio un diagnóstico general como tumores malignos de células redonda. Finalmente dos de los casos se diagnosticaron como linfoma estadio V, clasificación que se utiliza para la presentación clínica.

DISCUSIÓN

En este estudio se hizo una revisión retrospectiva y clasificación de los linfomas recibidos en el Laboratorio de Patología entre los años 2010-2017, utilizando los marcadores fenotípicos CD3 (marcador de células T) y CD79a (marcador de células B) según lo reportado por Valli y cols, 2011 (Valli et al 2007). En primer lugar se estableció la presentación de linfomas con relación a la raza y se verificó que las razas más frecuentes eran la mestiza y la Labrador. La literatura ha reportado que la mayor incidencia de esta neoplasia es en razas grandes, aunque es imposible determinar la talla de los animales reportados como mestizos. Sin embargo cuando se analiza la frecuencia de presentación de enfermedad según la raza, se debe tener en cuenta que este factor varía mucho y depende en gran parte del gusto de las personas por las razas, factor que puede cambiar mucho de un año a otro (Teske et al. 1994; Dobson et al, 2022, Edwards et al. 2003; Villamil et al. 2009).

TABLA 2. Comparación de resultados obtenidos en este estudio con los reportados anteriormente por el laboratorio.

DIAGNOSTICO ACTUAL	DIAGNOSTICO PREVIO	CONCORDANCIA
Leucemia/Linfoma linfoblastico de células T	Linfoma linfoblastico de precursores T	Completa concordancia
Linfoma de la zona marginal (MZL)	Linfoma folicular	Moderada concordancia
Linfoma difuso	Linfoma difuso de célula pequeña	Moderada concordancia
Leucemia/Linfoma linfoblastico de células T	Leucemia/linfoma linfoblastico	Moderada concordancia
Linfoma difuso	Leucemia/linfoma multicéntrico	Moderada concordancia
Linfoma nodal de células T	Linfoma difuso de células grandes	Moderada concordancia
Linfoma difuso	Linfoma de células B grandes difuso (Valli et al, 211)	Moderada concordancia
Linfoma de células T periféricas (PTCL)	Linfoma difuso de células pequeñas	Moderada concordancia
Linfoma difuso	Linfoma difuso de células intermedia	Moderada concordancia
Linfoma nodal de células T	Linfoma difuso de alta agresividad	Moderada concordancia
Linfoma nodal de células T	Linfoma difuso de células grandes	Moderada concordancia
Linfoma de células T periféricas (PTCL)	Linfoma cutáneo	Moderada concordancia
Linfoma de células T periféricas (PTCL)	Linfoma difuso	Moderada concordancia
Linfoma nodal de células T	Linfoma difuso nodular de células intermedias	Moderada concordancia
Linfoma de la zona marginal (MZL)	Linfoma difuso de células pequeñas	No concordancia
Linfoma de la zona marginal (MZL)	Linfoma difuso de células mixta	No concordancia
Linfoma de células T periféricas (PTCL)	Linfoma de células pequeñas leucémico -WHO	No concordancia
Linfoma nodal de células T	Linfoma folicular de células grandes	No concordancia
Linfoma de células T periféricas (PTCL)	Linfoma folicular y Hemangiosarcoma	No concordancia
Micosis fungoides (MF)	Linfoma de células T cutáneo epitelio trópico (Hiomitsu et al, 2012) o linfoma de células T periféricas (Valli et al, 2011)	No concordancia
Linfoma anaplasico de células grandes T (ALCL)	Linfoma linfoblastico de células grandes	No concordancia
Linfoma de células T periféricas (PTCL)	Tumor maligno de células redondas	Clasificación general (células redondas)
Linfoma de células T periféricas (PTCL)	Neoplasia maligna de células redondas	Clasificación general (células redondas)
Linfoma de células T periféricas (PTCL)	Neoplasia de células redondas	Clasificación general (células redondas)
Leucemia/Linfoma linfoblastico de células T	Linfoma estadio V	Clasificación clínica
Leucemia/Linfoma linfoblastico de células T	Linfoma estadio V	Clasificación clínica
Linfoma de zona T (TZL)		Clasificación general (linfoma)
Linfoma de células T periféricas (PTCL)	Linfoma y Sarcoma de células fusiformes	Clasificación general (linfoma)
Linfoma de células T periféricas (PTCL)	Linfoma	Clasificación general (linfoma)

La edad de presentación de linfomas en este trabajo fue variada no obstante los tumores se presentaron más en animales mayores de seis años, desde la década pasada se conoce que la incidencia de presentación del linfoma, lo que coincide con la mayoría de reportes (Geyer et al. 2010; Burkhard and Bienzle 2015; Zandvliet

2016; Head, KW; Else, RW; Dubielzig 2017). La predisposición por sexo no es una característica fundamental a evaluar para esta neoplasia ya que su presentación es aleatoria. En algunas razas como Golden Retriever se ha encontrado relación entre la ovariectomía en perras menores de un año y el riesgo de padecer Linfoma (Torres de la Riva et al. 2013; Zink et al. 2014).

La prevalencia de Linfoma de células T (72%) fue mayor con respecto a lo reportado en otros estudios donde el Linfoma de células B es el más prevalente (Fournel-Fleury et al, 2002, Ponce et al. 2010; Vezzali et al. 2010), en este caso solo había un Linfoma de células B. La particularidad de este estudio es que el 31% de los casos marcaron para ambos inmunomarcadores, aquellos denominados como Linfomas heterogéneos. La inmunomarcación exclusiva con solo dos anticuerpos (CD3, CD79a y CD20) es cuestionable ya que aproximadamente el 20% de los casos de Linfoma no son positivos a ninguno de estos marcadores, (Appelbaum et al. 1984; Guija de Arespachaga et al. 2007; Fedchenko and Reifenrath 2014))incluso no existe un marcador efectivo tanto para células B o T. Por tal motivo es necesario la implementación de otros inmunomarcadores y el uso de otras técnicas como; PARR y citometría de flujo (Thalheim et al. 2013; Aniolek et al. 2014; Johnston et al. 2014) que hasta el momento no están disponibles en el país, para lograr un diagnóstico más preciso.

Los sitios anatómicos que se encontraron en este estudio concuerdan con los referidos por la literatura por ejemplo uno de las localizaciones más remitidas fue la presentación multicéntrica, este tipo es la más común en Medicina Veterinaria (Ponce et al. 2010; Vezzali et al. 2010). Del Linfoma cutáneo se diagnosticaron

cuatro casos; uno correspondiente a Micosis fungoide (MF) (Fig. 7) y tres como LCTP, es importante mencionar que el Linfoma cutáneo tiene dos formas de presentación: epiteliotrópico (MF, síndrome de Szary y Reticulosis pagetoide) o no epiteliotrópico según la clasificación de WHO. La MF es casi exclusiva de perros mayores de 11 años (Brachelente et al. 2016) y la raza en la que más se diagnostica es en los Bóxer (Magnol, 1996).

Uno de los sitios comunes de metástasis es el pulmón pero también está descrito como un sitio primario de localización de Linfomas (Yohn, 1994), en este estudio se describe un linfoma en el pulmón, no obstante no se puede determinar si es primario o producto de una metástasis. Un hallazgo que se destaca en este estudio fue la presentación de dos neoplasias en el mismo órgano, el primero corresponde a un Bazo donde simultáneamente había un Linfoma de células T periféricas y un Hemangiosarcoma y el segundo caso es una piel con diagnóstico de PTCL y un Sarcoma de células fusiformes.

La clasificación final permitió concluir que los dos tipos de Linfomas más referidos en este estudio fueron PCTL (34%) y el linfoma nodal de células T (17%). Estos subtipos también hacen parte de los más reportados por Valli, et al 2011 revelando cierto grado de correlación entre ambos estudios. Sin embargo hay un grupo que corresponde a Linfomas difusos (14%) los cuales no pudieron ser clasificados apropiadamente por dos condiciones; primero su inmunomarcación fue positiva para ambos marcadores impidiendo su inmunofeotipificación y además arquitectónicamente era imposible saber la zona de origen en el nódulo linfático u en otros órganos.

Al hacer la comparación con los resultados previos se ve en primera instancia que existe cierto grado de correspondencia entre el patrón arquitectónico inicialmente descrito y el diagnóstico final, no obstante hay algunos casos en donde hay ligeras discrepancias en el resultado emitido, estas diferencias se centran más que todo en la descripción de la citología celular ya que muchas veces no corresponde al patrón descrito, cabe mencionar que la mayoría de los anteriores diagnósticos no tenían un método claro de clasificación simplemente se hacía énfasis en mencionar ciertas características que podrían indicar al clínico tratante algún indicio pronóstico. Uno de los casos que más llama la atención es el referenciado 152194 luego de hacer la evaluación correspondiente en un primer momento el diagnóstico final se emitió como Linfoma de células T cutáneo epiteliotrópico (Shiomitsu et al, 2012) o linfoma de células T periféricas - PTCL (Valli et al, 2011), al hacer la evaluación del caso se observó la formación de microabscesos de Pautrier y la invasión por parte de células neoplásicas a los estratos epidermales tanto por tinción de H&E e inmunohistoquímica, estos hallazgos son claves para concluir que se trata de un caso típico de Micosis fungoide (Fig. 7) (Moore et al, 2009 , Gonzalez-domínguez et al. 2014, Brachelente et al. 2016).

Este estudio refleja que la buena aplicación de los criterios diagnósticos tanto morfológicos como citológicos combinados con la aplicación de la técnica Inmunohistoquímica permiten una correcta calificación de los Linfomas según los criterios de la WHO y Valli et al, 2011, a pesar de esto siguen existiendo limitaciones como las ya mencionadas para algunos casos que dejan al descubierto ciertas inconsistencias de la actual clasificación, además comparada con los resultados

emitidos previamente muchas veces la morfología celular da serios indicios de que neoplasia podría ser. Es importante recalcar la necesidad de combinar el diagnóstico histopatológico con la citología ya que en muchos casos se pierde el detalle celular siendo la citología esencial para evaluarlo (Zink et al. 2014; Burkhard and Bienzle 2015; Caniatti et al. 2015; Zandvliet 2016). Actualmente el método de diagnóstico de Linfomas combina el uso de citología, histopatología, inmunofenotipo por citometría de flujo o Inmunohistoquímica y PARR, está claro que todas estas herramientas son imposibles de utilizar en nuestro medio ya que no contamos con la disponibilidad ni tampoco con los recursos económicos, pero el uso de todas estas herramientas permitirá en un futuro contar con una mejor precisión diagnóstica y pronóstica.

REFERENCIAS:

Aniolek O, Gajewski Z, Gizinski S. 2014. Application of flow cytometry in diagnosing lymphomas in dogs and cats. *Cent. Eur. J. Immunol.* 39:327–330. doi:10.5114/ceji.2014.45943.

Appelbaum FR, Sale GE, Storb R, Charrier K, Deeg HJ, Graham T, Wulff JC. 1984. Phenotyping of canine lymphoma with monoclonal antibodies directed at cell surface antigens: Classification, morphology, clinical presentation and response to chemotherapy. *Hematol. Oncol.* 2:151–168. doi:10.1002/hon.2900020205.

Brachelente C, Affolter VK, Fondati A, Porcellato I, Sforza M, Lepri E, Mechelli L, Bongiovanni L. 2016. CD3 and CD20 Coexpression in a Case of Canine Cutaneous Epitheliotropic T-Cell Lymphoma (Mycosis Fungoides). *Vet. Pathol.* 53:563–566. doi:10.1177/0300985815604724.

Burkhard MJ, Bienzle D. 2015. Making Sense of Lymphoma Diagnostics in Small Animal Patients. *Clin. Lab. Med.* 35:591–607. doi:10.1016/j.cll.2015.05.008.

Caniatti M, Roccabianca P, Scanziani E, Paltrinieri S, Moore PF. 2015. Canine Lymphoma: Immunocytochemical Analysis of Fine-needle Aspiration Biopsy. *J. Vet. Pathol.* 12:204–212.

Edwards DS, Henley WE, Harding EF, Dobson JM, Wood JLN. 2003. Breed incidence of lymphoma in a UK population of insured dogs. *Vet. Comp. Oncol.*

1:200–206. doi:10.1111/j.1476-5810.2003.00025.x.

Fedchenko N, Reifenrath J. 2014. Different approaches for interpretation and reporting of immunohistochemistry analysis results in the bone tissue – a review. *Diagn. Pathol.* 9:221. doi:10.1186/s13000-014-0221-9.

Frantz AM, Sarver AL, Ito D, Phang TL, Karimpour-Fard A, Scott MC, Valli VEO, Lindblad-Toh K, Burgess KE, Husbands BD, et al. 2013. Molecular Profiling Reveals Prognostically Significant Subtypes of Canine Lymphoma. *Vet. Pathol.* 50:693–703. doi:10.1177/0300985812465325.

Geyer NE, Reichle JK, Valdés-Martínez A, Williams J, Goggin JM, Leach L, Hanson J, Hill S, Axam T. 2010. Radiographic appearance of confirmed pulmonary lymphoma in cats and dogs. *Vet. Radiol. Ultrasound* 51:386–390. doi:10.1111/j.1740-8261.2010.01683.x.

Guija de Arespacochaga A, Schwendenwein I, Weissenböck H. 2007. Retrospective Study of 82 Cases of Canine Lymphoma in Austria based on the Working Formulation and Immunophenotyping. *J. Comp. Pathol.* 136:186–192. doi:10.1016/j.jcpa.2007.01.009.

Head, KW; Else, RW; Dubielzig R. 2017. *Tumors in Domestic Animals.*

Johnston SA, Thamm DH, Legutki JB. 2014. The immunosignature of canine lymphoma: characterization and diagnostic application. *BMC Cancer* 14:657. doi:10.1186/1471-2407-14-657.

Ponce F, Magnol JP, Ledieu D, Marchal T, Turinelli V, Chalvet-Monfray K, Fournel-Fleury C. 2004. Prognostic significance of morphological subtypes in canine malignant lymphomas during chemotherapy. *Vet. J.* 167:158–166. doi:10.1016/j.tvjl.2003.10.009.

Ponce F, Marchal T, Magnol JP, Turinelli V, Ledieu D, Bonnefont C, Pastor M, Delignette ML, Fournel-Fleury C. 2010. A Morphological Study of 608 Cases of Canine Malignant Lymphoma in France With a Focus on Comparative Similarities Between Canine and Human Lymphoma Morphology. *Vet. Pathol.* 47:414–433. doi:10.1177/0300985810363902.

Rao S, Lana S, Eickhoff J, Marcus E, Avery PR, Morley PS, Avery AC. 2011. *C l a s s I I M a j o r H i s t o c o m p a t i b i l i t y C o m p l e x E x p r e s s i o n a n d C e l l S i z e I n d e p e n d e n t l y P r e d i c t S u r v i v a l i n C a n i n e B - C e l l L y m p h o m a .* :1097–1105.

Teske E, de Vos JP, Egberink HF, Vos JH. 1994. Clustering in canine malignant lymphoma. *Vet. Q.* 16:134–136. doi:10.1080/01652176.1994.9694435.

Thalheim L, Williams LE, Borst LB, Fogle JE, Suter SE. 2013. Lymphoma immunophenotype of dogs determined by immunohistochemistry, flow cytometry, and polymerase chain reaction for antigen receptor rearrangements. *J. Vet. Intern. Med.* 27:1509–1516. doi:10.1111/jvim.12185.

Torres de la Riva G, Hart BL, Farver TB, Oberbauer AM, Messam LLM V, Willits N, Hart LA. 2013. Neutering Dogs: Effects on Joint Disorders and Cancers in Golden Retrievers. PLoS One 8. doi:10.1371/journal.pone.0055937.

Valli VE. Mature (peripheral) nodal T-cell (T-zone) lymphoma. In: Veterinary Comparative Hematopathology, pp. 294–302. Blackwell, Ames, IA, 2007.

Valli VE. Peripheral T-cell lymphoma, NOS. In: Veterinary Comparative Hematopathology, pp. 360–365. Blackwell, Ames, IA, 2007.

Valli VE. Anaplastic large cell lymphoma. In: Veterinary Comparative Hematopathology, pp. 339–343. Blackwell, Ames, IA, 2007.

Valli VE. Mature nodal and extranodal T-cell Lymphoma. In: Veterinary Comparative Hematopathology, pp. 312–326. Blackwell, Ames, IA, 2007.

Valli VE. Precursor T-cell Neoplasms. In: Veterinary Comparative Hematopathology, pp. 274–285. Blackwell, Ames, IA, 2007.

Valli VE, McSherry BJ, Dunham BM, Jacobs RM, Lumsden JH. 1981. Histocytology of lymphoid tumors in the dog, cat and cow. Vet. Pathol. 18:494–512. doi:10.1177/030098588101800408.

Valli VE. Mycosis Fungoides and Sézary Syndrome. In: Veterinary Comparative Hematopathology, pp. 331–337. Blackwell, Ames, IA, 2007.

Valli VE. Peripheral T-cell lymphoma, NOS. In: Veterinary Comparative Hematopathology, pp. 360–365. Blackwell, Ames, IA, 2007.

Valli VE. Marginal Zone and MALT Lymphoma. In: Veterinary Comparative Hematopathology, pp. 168–188. Blackwell, Ames, IA, 2007.

Valli VE, Myint MS, Barthel A, Bienzle D, Caswell J, Colbatzky F, Durham A, Ehrhart EJ, Johnson Y, Jones C, et al. 2011. Classification of Canine Malignant Lymphomas According to the World Health Organization Criteria. Vet. Pathol. 48:198–211. doi:10.1177/0300985810379428.

Vezzali E, Parodi AL, Marcato PS, Bettini G. 2010. Histopathologic classification of 171 cases of canine and feline non-Hodgkin lymphoma according to the WHO. Vet. Comp. Oncol. 8:38–49. doi:10.1111/j.1476-5829.2009.00201.x.

Villamil JA, Henry CJ, Hahn AW, Bryan JN, Tyler JW, Caldwell CW. 2009. Hormonal and Sex Impact on the Epidemiology of Canine Lymphoma. J. Cancer Epidemiol. 2009:1–7. doi:10.1155/2009/591753.

Zandvliet M. 2016. Canine lymphoma: a review. Vet. Q. 36:76–104. doi:10.1080/01652176.2016.1152633.

Zink MC, Farhooody P, Elser SE, Ruffini LD, Gibbons TA, Rieger RH. 2014. Evaluation of the risk and age of onset of cancer and behavioral disorders in

gonadectomized Vizslas. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 244:309–319.
doi:10.2460/javma.244.3.309.