



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD



"Análisis y caracterización morfológica de muestras citológicas y reportes diagnósticos de TVT de caninos, reportados en un laboratorio en Quito en los años 2016-2017"



AUTOR

Nicolás Alejandro Ortiz Herdoíza

AÑO

2018



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

Análisis y caracterización morfológica de muestras citológicas y reportes diagnósticos de TVT de caninos, reportados en un laboratorio en Quito en los años 2016-2017

Trabajo de titulación presentado en conformidad con los requisitos establecidos para optar por el título de Médico Veterinario

Profesor Guía

Juan José Pesantez Valdivieso

Autor:

Nicolás Alejandro Ortiz Herdoíza

Año

2018

## **DECLARACIÓN DEL PROFESOR GUÍA**

"Declaro haber dirigido el trabajo, Análisis y caracterización morfológica de muestras citológicas y reportes diagnósticos de TVT de caninos, reportados en un laboratorio en Quito en los años 2016-2017, a través de reuniones periódicas con el estudiante Nicolás Alejandro Ortiz Herdoíza, en el semestre 2018-2, orientando sus conocimientos y competencias para un eficiente desarrollo del tema escogido y dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación".

---

MSc. Médico Veterinario y Zootecnista Juan José Pesantez Valdivieso

CI .1716395791

## **DECLARACIÓN DEL PROFESOR CORRECTOR**

"Declaro haber revisado este trabajo, Análisis y caracterización morfológica de muestras citológicas y reportes diagnósticos de TVT de caninos, reportados en un laboratorio en Quito en los años 2016-2017, de Nicolás Alejandro Ortiz Herdoíza, en el semestre 2018-2, dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación".

---

MV. MSc. PhD. Alexander Genoy Puerto

Maestro en Medicina Veterinaria y Zootecnia

CI. 1757589278

## **DECLARACIÓN DE AUTORÍA DEL ESTUDIANTE**

“Declaro que este trabajo es original, de mi autoría, que se han citado las fuentes correspondientes y que en su ejecución se respetaron las disposiciones legales que protegen los derechos de autor vigentes.”

---

Nicolás Alejandro Ortiz Herdoíza

CI. 1718367731

## **AGRADECIMIENTOS**

Le agradezco a Dios por cumplir este sueño; A mis padres, por acompañarme en este camino; A cada uno de los doctores que estuvieron presentes en mi proceso de formación; A todos los amigos, compañeros y colegas, especialmente a José, Steffany y Martín ; Al Dr. Juan José Pesantez, que me ayudó a darle forma a este trabajo. Al Dr. Julio Ortiz que no solo me ayudó a realizar este trabajo, sino que, como un gran amigo, me guía y alienta a ser cada día un mejor veterinario.

Un agradecimiento especial a la Dra. Ana Paredes, más que una amiga, una compañera de vida, que me ha apoyado en los momentos más difíciles.

## **DEDICATORIA**

Esta tesis está dedicada a todos aquellos futuros veterinarios y quienes creen que pueden cambiar al mundo con trabajo y esfuerzo.

Le dedico este trabajo a Guadalupe, Víctor, Piedad Lucas, mis compañeros incondicionales e inspiración para luchar todos los días de mi vida.

## RESUMEN

El presente estudio se llevó a cabo con el fin de conocer las características celulares presentes en el tumor venéreo transmisible, no analizadas previamente en nuestro medio, de los casos diagnosticados positivos en caninos en un laboratorio veterinario de la ciudad de Quito durante los años 2016-2017, además de establecer la existencia de predisposiciones por edad, raza o sexo de las 3 líneas celulares que presenta esta neoplasia. Para el desarrollo de este estudio, se realizó una revisión de las bases de datos física y virtual del laboratorio, con el objetivo de realizar la búsqueda de los reportes diagnósticos correspondientes a casos positivos del tumor y la adquisición de las correspondientes laminillas de estudio citopatológico, para el reconocimiento de su estado de conservación y tinción. Posterior a la revisión del estado de las muestras, se tomaron los datos clínicos de edad, raza y sexo, además de los datos diagnósticos de la morfología celular de cada caso y sus correspondientes características de malignidad, llevando a cabo una reevaluación de las laminillas, actividad guiada por el jefe de servicio del laboratorio. Con estos datos se logró determinar una mayor presentación de TVT de tipo plasmocitoide, donde los animales mayormente afectados resultaron ser: machos adultos (4-7 años) de raza mestiza y donde las características de malignidad se veían más marcadas en la línea Mixta. Por último se concluyó que no existe una relación de las variables clínicas de los pacientes con las líneas celulares del tumor al aplicar el test estadístico  $X^2$  con un nivel de significancia del 5%.

## **ABSTRACT**

The main objective of this study was to know the cellular characteristics of Transmissible Venereal Tumor (TVT) of the cases diagnosed as positive in a veterinary laboratory of histopathological studied in the years 2016-2017, also, relate the presentation phenotype of this neoplasm with the variables age, breed and sex. For the development of this retrospective type of research, first, it was made a research from the physical and virtual databases of the laboratory were carried out; this search includes the diagnostic reports and its correspondent cytopathological study sample. After the search, the inclusion criteria of the study were applied to perform the review of the well-preserved samples and extract information about the variables of the patients. With these, the morphological characteristics and criteria of malignancy of the tumor were reviewed, registered and related with the previously described variables. The results have shown that the most affected individual are mix breed males, ages 4-7 years old, the most common phenotype is plasmocytoid, and it does not exist a significant relation between the clinical features and the morphological types of TVT.

## ÍNDICE

1. CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Introducción .....	1
1.2 Objetivo General .....	2
1.3    Objetivos Específicos.....	2
1.4    Pregunta de investigación.....	2
2. CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO .....	3
2.1 Tumor Venéreo Transmisible .....	3
2.1.1 Etiología y Mecanismos de Transmisión .....	3
2.1.1.1 Epidemiología .....	5
2.1.2 Patogenia.....	6
2.1.3 Diagnóstico Citológico .....	7
2.1.4 Criterios de Malignidad Celular .....	11
2.1.4.1 Criterios neoplásicos.....	11
2.1.5 Otros métodos diagnósticos .....	14
3. CAPÍTULO III METODOLOGÍA.....	16
3.1 Ubicación geográfica del estudio.....	16
3.2 Características de la muestra.....	16
3.2.1 Criterios de inclusión .....	16
3.2.2 Criterios de exclusión .....	16
3.3 Materiales y Métodos.....	16

3.3.1 Materiales .....	16
3.4 Metodología .....	17
3.5 Análisis estadístico .....	20
4. CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	21
4.2 Discusión .....	33
4.3 Limitantes .....	36
5. CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	37
5.1 Conclusiones .....	37
5.2 Recomendaciones .....	37
REFERENCIAS .....	38
ANEXOS .....	43

## ÍNDICE DE FIGURAS

<i>FIGURA 1. MODELO DE EVASIÓN INMUNE DURANTE LA FASE PROGRESIVA DEL TVT. ....</i>	4
<i>FIGURA 2. TVT DE PATRÓN LINFOCITOIDE.....</i>	9
<i>FIGURA 3. TVT DE PATRÓN LINFOCITOIDE.....</i>	10
<i>FIGURA 4. TVT DE PATRÓN MIXTO.....</i>	11
<i>FIGURA 5. CRITERIOS DE MALIGNIDAD NUCLEAR .....</i>	12
<i>FIGURA 6. CÉLULA MULTINUCLEADA CON NUCLÉOLOS PROMINENTES. ....</i>	13
<i>FIGURA 7. MITOSIS GIGANTE ATÍPICA EN SARCOMA FELINO.. ....</i>	13
<i>FIGURA 8. ANISOCITOSIS Y ANISOCARIOSIS EN ADENOCARCINOMA FELINO.. ....</i>	14
<i>FIGURA 9. HISTOPATOLOGÍA DEL TUMOR VENÉREO TRANSMISIBLE.. ....</i>	15
<i>FIGURA 10. PORCENTAJES DE PRESENTACIÓN DE CADA LÍNEA CELULAR. ....</i>	21
<i>FIGURA 12. TVT DE LÍNEA PLASMOCITOIDE. ....</i>	22
<i>FIGURA 13. TVT DE LÍNEA LINFOCITOIDE.....</i>	23
<i>FIGURA 14. TVT DE LÍNEA MIXTA. ....</i>	24
<i>FIGURA 15. RELACIÓN DE LÍNEAS CELULARES DE TVT Y RANGOS DE EDAD. ....</i>	26
<i>FIGURA 16. RELACIÓN DE LÍNEAS CELULARES DE TVT Y RAZAS DE PERROS.....</i>	26
<i>FIGURA 17. RELACIÓN DE LÍNEAS CELULARES DE TVT Y SEXO.....</i>	27
<i>FIGURA 18. NUCLÉOLOS EVIDENTES-NUCLÉOLO ANGULAR-ANISOCITOSIS .....</i>	30
<i>FIGURA 19. MULTINUCEACIÓN Y BINUCEACIÓN. ....</i>	31
<i>FIGURA 20. MITOSIS ATÍPICAS (P16-545). ....</i>	32
<i>FIGURA 21. VACUOLAS INTRACITOPLASMÁTICAS - MOLDEADO NUCLEAR. ....</i>	32

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Distribución de muestras entre la malignidad. ....	26
Tabla 2. Tabla de hallazgos relacionados a edad, sexo y raza de casos de perros positivos TVT en los años 2016-2017.....	29

## 1. CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN

### 1.1 Introducción

El tumor venéreo transmisible (TVT) es una neoplasia de distribución mundial, sin embargo, resulta ser una de las neoplasias diagnosticadas con mayor frecuencia en Latinoamérica. Este tumor es parte de una diferenciación de los tumores de células redondas y tiene un comportamiento de transmisión por contacto sexual o por socialización de los caninos, esto puede deberse a que existe poco control de población canina urbana y a la sobrepoblación canina producto de la inconciencia social. Este tumor presenta un comportamiento distinto de acuerdo con sus características biológicas, es decir que este tipo de tumor puede presentar tres líneas celulares o fenotipos morfológicos distintos: plasmocitoide, linfocitoide y mixto (de Oliveira Lima et al., 2013).

Usualmente este tumor es fácilmente diagnosticado por el examen clínico, considerando su presentación macroscópica característica, este es un tumor de aspecto blando, rojizo, que tiende a presentar hemorragia debido a su localización en órganos genitales externos tiende a presentar ulceraciones (que pueden llegar a infectarse) e inflamación (Das & Das, 2000).

Si bien es cierto, el examen clínico puede determinar esta neoplasia, un diagnóstico confirmativo, se tiene que utilizar para determinar las características del tumor, dentro de los exámenes de complementarios tenemos el examen citológico e histopatológico, estos se realizan con el fin de mostrar el fenotipo celular del tumor, existen 3 subtipos celulares del tumor; el plasmocitoide, linfocitoide y mixto, siendo el mayormente descrito o diagnosticado la línea Plasmocitoide. Cada fenotipo muestra un comportamiento neoplásico diferente, sin embargo, en los últimos años se ha notado ciertas características referentes a cada uno y su relación con los criterios de malignidad celular que los mismos presentan (Do Amaral, et al., 2007 y De Olivera, et al., 2013).

## **1.2 Objetivo General**

Estudiar los casos positivos de TVT diagnosticados por el laboratorio, durante el periodo 2016-2017, mediante citopatología, para identificar las características morfológicas del tumor y su relación con factores de riesgo,

## **1.3 Objetivos Específicos**

1. Identificar los casos positivos de TVT, diagnosticados por citología, mediante microscopía de luz, en la base de datos del laboratorio, para establecer la cantidad de muestras a estudiar.
2. Establecer el universo de estudio mediante la localización de las laminillas de estudio citológico almacenadas en el archivo físico del laboratorio, con el fin de realizar una revisión microscópica para caracterizar los fenotipos celulares del tumor y los criterios de malignidad que este presenta.
3. Relacionar los fenotipos del TVT con las variables de edad, raza y sexo, mediante estadística descriptiva, para identificar posibles predisposiciones.

## **1.4 Pregunta de investigación.**

¿Qué características fenotípicas presenta el TVT en relación con las variables: edad, raza y sexo?

## 2. CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

### 2.1 Tumor Venéreo Transmisible

El tumor venéreo transmisible (TVT), también conocido como linfosarcoma de Sticker y causante del cáncer facial del Demonio de Tasmania (enfermedad de tumores faciales), es un tumor único que posee la propiedad de transmitirse o contagiarse entre individuos de la misma especie (Duarte & Albertus, 2014).

Este tumor, junto con el carcinoma de células escamosas, es considerado como la neoplasia más frecuente del pene y su signo clínico (casi patognomónico) es la hemorragia (Duarte & Albertus, 2014). Se localiza usualmente en la base del pene en el macho y en la zona de la vulva en las hembras. Sin embargo, otras zonas de presentación se relacionan a las mucosas de los animales, como la mucosa bucal y la trufa de la nariz (Birhan & Chanie, 2015; Valenciano & Cowell, 2013).

#### 2.1.1 Etiología y Mecanismos de Transmisión

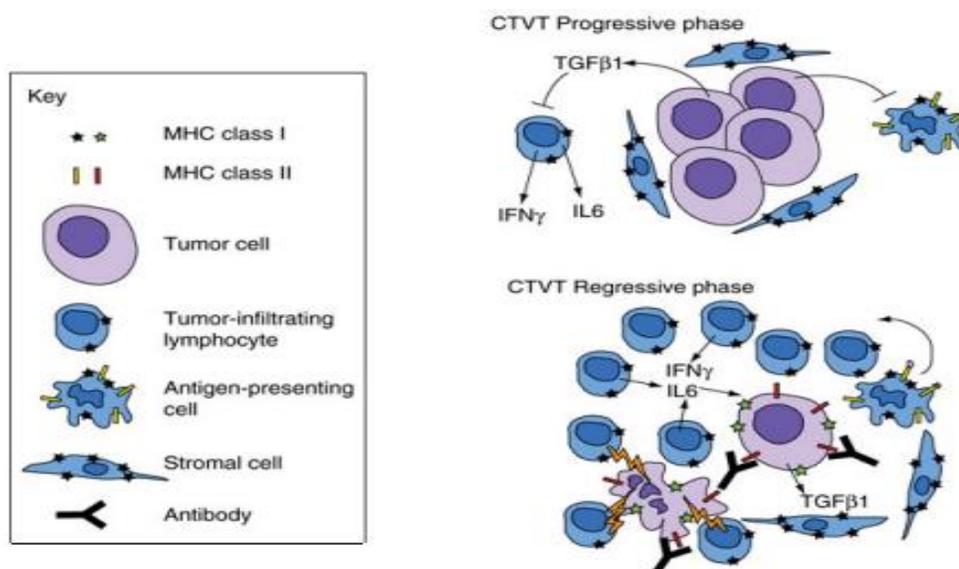
El tumor venéreo transmisible tiene una etiología desconocida asociada a la de transmisión sexual; un estudio realizado por Nowinsky en 1876 logró trasplantar el tumor entre perros extrayendo y frotando una muestra del tumor en la mucosa genital de un perro infectado a otro susceptible, determinando que el tumor puede presentarse en la zona genital de ambos sexos (Das & Das, 2000; Pineda Cruz et al., 2010).

El estudio también logró determinar puntos importantes como el tiempo de aparición de la neoplasia posterior a la infección, el cual abarca un periodo de a 2-6 meses (Das & Das, 2000; Pineda Cruz et al., 2010).

El mecanismo de transmisión más frecuente se refiere al contacto sexual, sin embargo, los animales susceptibles pueden realizar actividades de socialización como olfateo y lamido de genitales de animales infectados, esto permite desarrollar la enfermedad en la mucosa oral y nasal o recurrir al lamido de la

propia área genital desarrollando la neoplasia en la zona originaria sin haber mantenido coito (CORA et al., 2017; Das & Das, 2000).

Algunos autores describen al agente etiológico de esta patología como un virus que está relacionado a partículas virales oncogénicas como las presenta el papilomavirus canino, no obstante, estudios de microscopía electrónica no lograron encontrar ninguna característica que demostrase esta teoría (Das & Das, 2000; Ortiz & López, 2008). Sin embargo, otros autores describen que este tumor se transmite en extractos de células libres en partículas de tipo C, propias de un retrovirus que le den la capacidad al tumor de evadir al complejo mayor de histocompatibilidad (Figura1) (Das & Das, 2000; Martínez López, 2015; Sapp & Adams, 1970).



*Figura 1.* Modelo de evasión del sistema inmune durante la fase progresiva del TVT. Tomado de (Murchison, 2009)

El proceso de evasión del sistema inmune se divide en dos fases, la primera se considera una etapa proliferativa, esto se da cuando las células tumorales no son reconocidas como cuerpos extraños, durante este período, no se expresan proteínas que activen el complejo mayor de histocompatibilidad I y II, esto debido a la producción del factor de crecimiento beta 1, una citoquina que inhibe la

infiltración linfocítica que induce citotoxicidad y apoptosis. El tumor también puede inhibir algunos tipos de antígeno (Murchison, 2009).

Posterior a la fase proliferativa, el tumor entra en regresión, aquí la cantidad de linfocitos infiltra la neoplasia en mayor número produciendo interferón gama e interleucina 6, inhibiendo el efecto del factor de crecimiento beta 1 producido por el tumor (Murchison, 2009).

Lo que se conoce en la actualidad acerca de este tumor es que posee 57-59 cromosomas/cariotipos genéticos a diferencia de los 78 caninos, lo cual muestra que estos organismos no pertenecen al individuo portador y que se trata de un agente infeccioso (Eze, Anyanwu, & Kene, 2007; Martínez López, 2015; Murchison, 2009)

#### **2.1.1.1 Epidemiología**

El TVT es un tumor considerado infeccioso y de distribución mundial. Este afecta a un gran porcentaje de animales de la especie *Canis spp.* Se ha reportado un incremento en climas templados y áreas enzooticas; dentro de estas se habla de: Sudeste de Norteamérica, Centro y Sudamérica, África, medio y lejano Oriente y el Sudeste de Europa. Con respecto a dichas zonas, la bibliografía menciona que en América del Sur la enfermedad es pobremente controlada puesto a existe una gran población de fauna urbana y los animales que pertenecen a dicha población no poseen un control reproductivo, por lo que la probabilidad e incidencia de la infección incrementa; incluso, a esta realidad se le atribuye que por mucho el TVT es el tumor más común en perros, de tal forma que representa el 5-10% de casos reportados en países de América Latina. También se han reportado cierta cantidad de casos en áreas libres de TVT. (Miller, Griffin, Campbell, & Muller, 2013; Sanchez Rojas, Canizales Marín, Casanova Salazar, Guzmán Peralta, & Zootecnista, 2017).

Los factores de riesgo que se le atribuyen a esta enfermedad incluyen el libre acceso a áreas públicas, animales enteros y animales adultos. (Miller, et al., 2013; Sanchez Rojas, et al., 2017).

Los estudios realizados por Amaral (2005) y Lima (2013) mostraron que el patrón de TVT que se observa con más frecuencia de presentación es el plasmocitoide, seguido por la línea celular mixta y por último la línea linfocitoide, siendo así. Además se conoce que la línea plasmocitoide tiene una mayor presentación de masas no primarias y con alta probabilidad de metástasis.

### **2.1.2 Patogenia**

Hasta la actualidad no se conocen los mecanismos específicos de transmisión de este tumor, sin embargo, Mayra Martínez (2015) hace referencia a los estudios realizados por Yang (1988) y Cheng-Chi (2007) que, bajo condiciones controladas, determinaron la relación de distintas presentaciones de TVT con edad y estado inmunológico.

El crecimiento y apareamiento del tumor se da a los 15-60 días posterior a la implantación. Posterior al apareamiento este aparece como un pequeño nódulo que se desarrolla en la mucosa genital para después diseminarse a cualquiera de los tejidos mucosos del organismo que tengan contacto con la neoplasia. En el macho se describe que la lesión se ubica, en primera instancia, en el ápice del prepucio como una lesión única o múltiple, cuyas masas pueden llegar a medir hasta 10cm de diámetro en forma de coliflor. Mientras que en la hembra se ubica en las paredes de los labios vulvares, en la pared dorsal de la vagina profundizándose a través del tejido al cual lo ulcera hasta llegar al vestíbulo (Ortiz & López, 2008; Sanchez Rojas, et al., 2017; Zachary & McGavin, 2013)

Se sabe que el macho puede presentar la neoplasia inicial en cualquier parte de los genitales externos, y la causa de metástasis se relaciona a la cantidad de masas que pueden aparecer en dichos órganos (Ortiz Calle & Quito Saldaña, 2013; Sanchez Rojas, et al., 2017; Zachary & McGavin, 2013)

Esta neoplasia puede crecer paulatinamente e impredeciblemente por años, de tal forma que con el tiempo puede adquirir un comportamiento invasivo, generando metástasis y volverse maligno. Sin embargo, el sistema inmune del hospedador mantiene un rol importante al evitar el crecimiento y diseminación del mismo, esta función se da debido a que el TVT es un tumor inmunogénico (Moulton, 1978; Raskin & Meyer, 2015; Zachary & McGavin, 2013)

La metástasis de TVT ha sido descrita en tejidos subcutáneos, piel, linfonodos, ojos, sistema nervioso, hígado, bazo, mucosa oral, peritoneo y médula ósea, siendo las más peligrosas las producidas en el globo ocular y el sistema nervioso central (De la Sota, Dàmico, Adagio, Noia, & Gobello, 2017) citando a (Yang, 1988).

Los mecanismos de acción de esta patología no están bien determinados, sin embargo se conoce que produce una alteración genética que afecta la formación normal de usos mitóticos y segregación de cromosomas, misma característica que ha sido relacionada a la capacidad de este tumor de evadir la respuesta inmunológica del organismo y la acción de quimioterapéuticos como vincristina (Frampton et al., 2018). Algunos ensayos inmunológicos han demostrado que el tumor actúa a través del complejo mayor de histocompatibilidad., además que las formas del tumor más agresivas no presentan antígenos para los CMH I y II, mientras que los tumores que presentan regresión espontánea sí los presentan en su mayoría (35%)(Frampton, et al., 2018; Martins, de Souza, Ferreira, & Gobello, 2005).

### **2.1.3 Diagnóstico Citológico**

El método diagnóstico de elección para este tumor es el estudio citológico, el cual consiste en un examen de gabinete mínimamente invasivo que se realiza después de la anamnesis y el examen clínico para el diagnóstico de neoplasias (Martínez López, 2015).

Las técnicas que incluye el estudio citológico son las improntas, hisopados o punción y aspiración por aguja fina (PAAF) cuya finalidad es colocar la muestra por medio de un frotis en placas portaobjetos para impregnar la celularidad y mostrar las características celulares del TVT, por eso, aún en neoplasias extra-genitales y excéntricas esta es una técnica concluyente de diagnóstico (Sanchez Rojas, et al., 2017) (Zinkl, 2009; Loyola 2014).

En el estudio microscópico de este tumor se observan células grandes redondeadas u ovaladas de diámetros que comprenden entre 15-30 micras; estas presentan un núcleo y citoplasma ligeramente aumentado, sin embargo, la relación de estos dos organelos sigue siendo moderada por el tamaño del núcleo, mientras el citoplasma se muestra moderadamente basófilo y con vacuolas citoplasmáticas claras que varían de 1-2 micras de diámetro, las mismas que al estar presentes diferencian al TVT de un mastocitoma o un histiocitoma (de estas también se habla un criterio de malignidad el cual indica la cantidad de vacuolas presentes) (González, Cepeda, Flores, Cattaneo, & Reyes, 2003).

Otras características que posee este tumor son los núcleos mayormente excéntricos, redondeados y ocasionalmente binucleados, además presentan una clara hiper cromatosis, cariomegalia e hipercondensación de la cromatina conjuntamente con la aparición de varios nucléolos que indican distintas fases de mitosis de las células (Jhonson, 2000; Santos et al., 2001; Mello y Ferreira, 2004 Loyola, 2014 & Sanchez Rojas, et al., 2017).

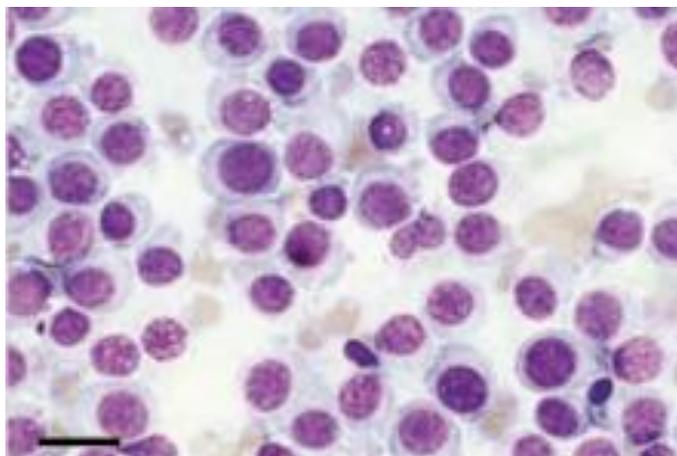
En la placa se puede encontrar un fondo hemorrágico e infiltración leucocitaria tomando en cuenta que una característica del tumor es ser altamente vascularizado al estar en constante fricción con el medio externo (González, et al., 2003).

Los tumores ulcerados poseen un alto contenido celular inflamatorio como neutrófilos, macrófagos, linfocitos y otras células epiteliales contaminadas o en fagocitosis de agentes bacterianos (Valenciano & Cowell, 2013) (Zinkl, 2009).

Como menciona Loyola (2014), la primera vez que la literatura toma referencia sobre los subtipos celulares de este tumor es en 2003, debido a que algunos autores reportaban ausencia de vacuolas o que estas tenían morfología ovoide con una mayor cantidad de citoplasma (característica de malignidad) (Gaspar, Amaral, Bassani-Silva, & Rocha, 2009). Relacionando a que el aspecto de las células varía en los tipos de tumor ya sea primario o secundario y metastásico (Do Amaral et al., 2007). Así se lograron determinar tres patrones celulares específicos de este tumor siendo:

#### **2.1.3.1 TVT de Patrón Linfocitoide**

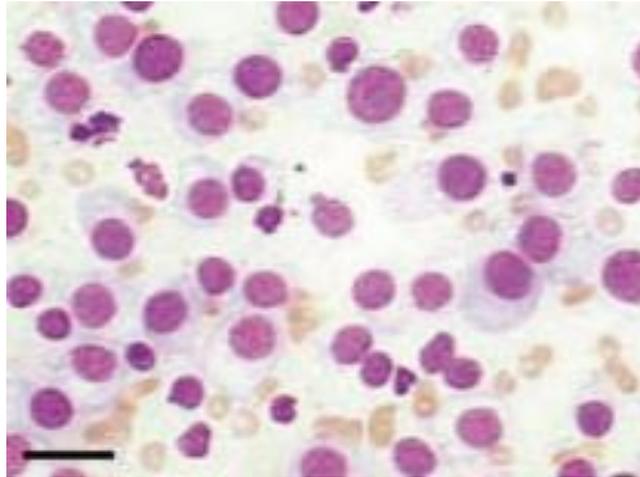
Se clasificaron de esta forma al ser tumores cuyo estudio citológico revela al menos un 60% de células redondas con citoplasma granular fino, de núcleos más centralizados, redondeados y con mayor relación núcleo: citoplasma, muy similar a la observada en linfocitos de la línea hemolinfática (Figura 2) (Do Amaral, et al., 2007; Sanchez Rojas, et al., 2017)



*Figura 2.* TVT de patrón linfocitoide. Muestra citológica en la que se observa predominio de células redondas de citoplasma escaso y alta relación núcleo: citoplasma. Muestra 22. 40x. Diff Quick. Tomado de (Amaral et al., 2007).

#### **2.1.3.2 TVT de Patrón Plasmocitoide**

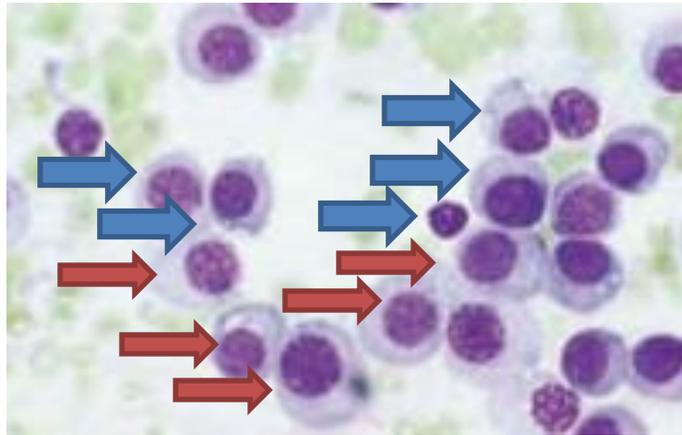
Se le clasifica de esta manera cuando el 60% de las células que forman el parénquima de la muestra son de forma ovoide con citoplasma abundante, en comparación al de la línea linfocitoide y con un núcleo excéntrico similar a los plasmocitos (Figura 3) (Amaral, 2005; Sanchez Rojas, et al., 2017)



*Figura 3.* TVT de patrón linfocitoide. Se observa predominio de células redondas de escaso citoplasma y alta relación núcleo: citoplasma. Tomado de (Amaral et al., 2005).

#### **2.1.3.2 TVT de Patrón Mixto**

Se los denomina de esta forma cuando se encuentra una población mixta de células semejantes a linfocitos y plasmocitos donde ninguno rebasa la mayoría del campo de observación microscópica (Figura 4) (Amaral, 2005; Do Amaral, et al., 2007)



*Figura 4.* TVT de patrón Mixto. Se observa presencia de dos tipos morfológicos, sin predominio de ninguno (flecha roja: célula tipo plasmocitoide; flecha azul: célula tipo linfocitoide). Diff Quick (Objetivo x40).

Los investigadores de este tumor relacionan la línea plasmocitoide como un tumor pequeño, mientras que la línea linfocitoide y mixta a tumores medianos y grandes (Sanchez Rojas, et al., 2017).

#### **2.1.4 Criterios de Malignidad Celular**

##### **2.1.4.1 Criterios neoplásicos**

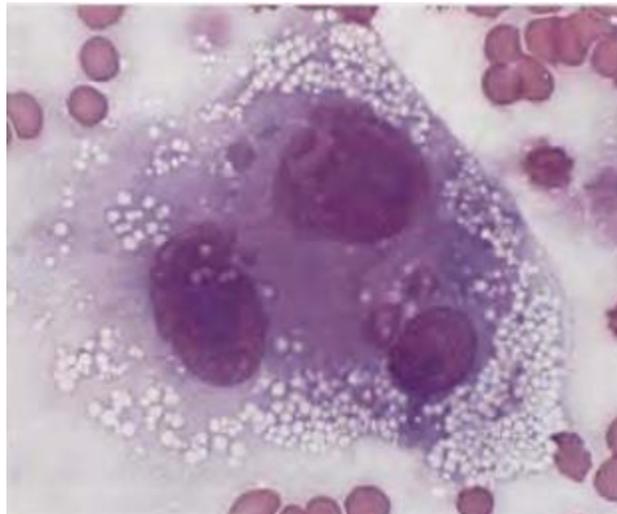
El estudio citológico de neoplasias involucra el planteamiento y resolución de algunas interrogantes. Una de ellas es responder si la muestra examinada es realmente una neoplasia, de qué tipo de celularidad está compuesta y si presenta un comportamiento benigno o maligno en base a características denominadas criterios de malignidad. Dichos criterios son alteraciones celulares no causadas por reacciones inflamatorias. Entre estas características tenemos: criterios nucleares y criterios celulares. (Fernández, Jiménez de la Puerta, & Aguilar, 2003; Fonseca et al., 2012).

Los criterios nucleares son:

- Anisocariosis: esta alteración muestra una variación en el tamaño de los núcleos de las células alteradas de la muestra y pudiendo existir polimorfismo representado por aumento en el número de núcleos y

variaciones en la forma de los mismos (Fernández, et al., 2003; Fonseca, et al., 2012; Raskin & Meyer, 2015)

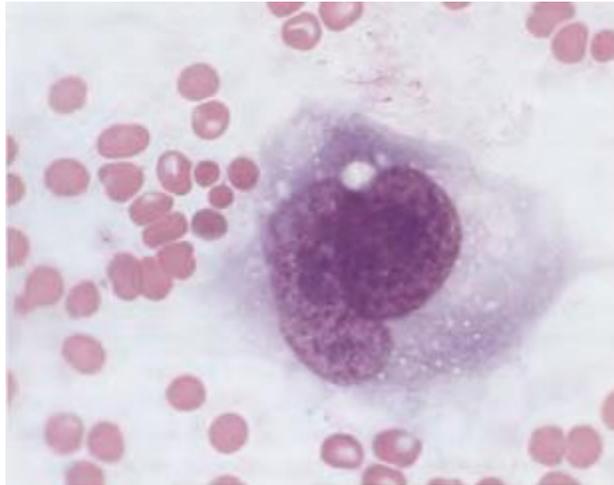
- **Macrocariosis:** consiste en el aumento de tamaño del núcleo tomando como referencia el tamaño de los eritrocitos (6-8 micras) (Fernández, et al., 2003; Raskin & Meyer, 2015).
- **Binucleación o multinucleación:** dos o más núcleos dentro del citoplasma celular, tratándose de una alteración del ciclo normal de mitosis. A esta característica se le agrega la excepción de los histiocitos ya que estos pueden formar células gigantes multinucleadas, los megacariocitos y los osteoclastos que poseen características similares (Fernández, et al., 2003; Raskin & Meyer, 2015).
- **Incremento del patrón de cromatina:** consiste en la acumulación grumosa de cromatina por el incremento de ADN con dispersión periférica nuclear (Fernández, et al., 2003; Martins, et al., 2005; Raskin & Meyer, 2015)



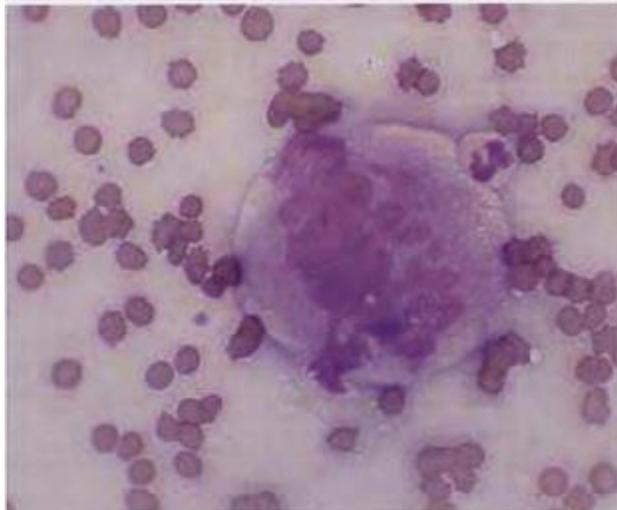
*Figura 5.* Criterios de malignidad nuclear: anisocitosis, anisocariosis y macronucleólos en fibrosarcoma felino post-vacunal. Tomado de (Fernández et al, 2003).

- **Incremento del volumen nucleolar:** se refiere al incremento en tamaño (>5micras) y número con intensa basofilia.

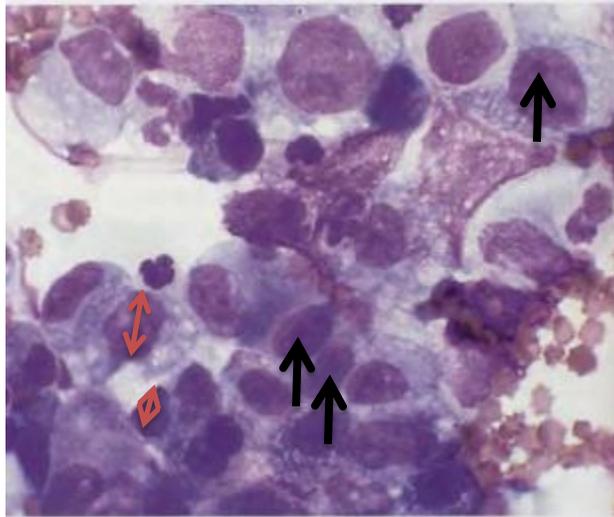
Las características de malignidad que se le adicionan al TVT son referentes a la cantidad de vacuolas que este posee y a la variación del tamaño del núcleo (Sanchez Rojas, et al., 2017).



*Figura 6.* Célula multinucleada con nucléolos prominentes en sarcoma felino. Se logra observar la Binucleación de esta célula y la condensación heterogénea de la cromatina. Tomado de (Fernández et al, 2003).



*Figura 7.* Mitosis gigante atípica en sarcoma felino. En esta imagen se logra apreciar una fase mitótica de una célula tumoral Tomado de (Fernández et al, 2003).



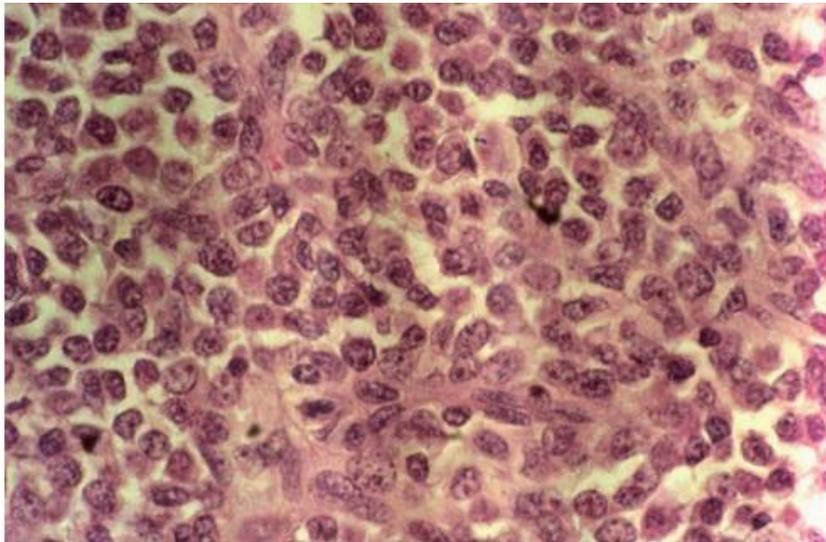
*Figura 8.* Anisocitosis y anisocariosis, elevada celularidad y alta basofilia en adenocarcinoma felino. Las flechas rojas indican células con núcleos de diferentes tamaños, la flecha negra muestra heterogeneidad de la cromatina e hipercondensación de nucléolos. Tomado de (Fernández et al, 2003).

### 2.1.5 Otros métodos diagnósticos

Existen tres métodos diagnósticos para el TVT; estos son: citología, histopatología e inmunohistoquímica.

#### 2.1.5.1 Histopatología

Esta es la técnica confirmatoria del diagnóstico citológico, se observan células grandes y redondeadas de origen mesenquimatoso, levemente ovaladas que a menudo crecen en patrón de filas en el estroma vascular formando un tejido homogéneo con fibras reticulares que rodean pequeños grupos tumorales. El citoplasma se observa levemente granuloso y con vacuolas, mientras los núcleos de estas células se encuentran incrementados de tamaño respecto al tamaño de la célula. A esto se le adicionan características o hallazgos como la anisocitosis relacionada a los diferentes estadios de mitosis, además se pueden encontrar infiltrados inflamatorios como linfocitos, macrófagos, neutrófilos y células plasmáticas (Gross, Ihrke, Walder, & Affolter, 2008; Martins, et al., 2005)



*Figura 9.* Histopatología del tumor venéreo transmisible. Láminas compactas de células neoplásicas poliédricas, de núcleo grande, central e hiper cromático con uno o dos grandes nucléolos y figuras de mitosis abundantes; estas células están rodeadas por un delicado estroma pseudoacinar fibroso y vascularizado (40x). Tomado de (Vergaray & Zuriza, 2006).

#### **2.1.5.2 Inmunohistoquímica**

La técnica utilizada para este tipo de estudio es la coloración de Regiones Organizadas Nucleolares (NOR) con impregnación de nitrato de plata (AgNOR) que permiten medir parámetros biológicos referentes a la proliferación celular del tumor diferenciándolo en benigno y maligno, debido a que la velocidad de desarrollo de un tumor es un factor importante en el curso clínico del cáncer, al ser un valor más alto el de AgNOR, se tiene un peor pronóstico (Gross, et al., 2008; Rodríguez, Perales, Chavera, & Díaz, 2010; Sanchez Rojas, et al., 2017)

### **3. CAPÍTULO III METODOLOGÍA**

#### **3.1 Ubicación geográfica del estudio**

El estudio se llevó a cabo en las instalaciones de un laboratorio de diagnóstico histopatológico veterinario, ubicado en la provincia de Pichincha, en la ciudad de Quito. El jefe del servicio posee una base de datos amplia sobre diagnóstico citológico, histológico y del estudio de necropsias.

#### **3.2 Características de la muestra**

##### **3.2.1 Criterios de inclusión**

- Casos citopatológicos de neoplasias correspondientes a TVT en caninos de la base de datos virtual del laboratorio, diagnosticados durante el periodo 2016-2017.
- Laminillas de casos citopatológicos de TVT en caninos de los años 2016-2017 que se encuentren disponibles y en buen estado de conservación en la base de datos física del laboratorio.

##### **3.2.2 Criterios de exclusión**

- Casos citopatológicos, histopatológicos y necropsias de neoplasias no correspondientes a TVT u otro tipo de procesos patológicos en caninos en la base de datos virtual del laboratorio, analizadas durante el periodo 2016-2017.
- Laminillas de casos citopatológicos de TVT en caninos que no se encuentren disponibles, estén mal conservadas o mal teñidas, que se encuentren en la base de datos física del laboratorio, correspondientes al periodo 2016-2017.

#### **3.3 Materiales y Métodos**

##### **3.3.1 Materiales**

En el anexo 6 se presentan de forma clara los materiales utilizados en este estudio.

### **3.4 Metodología**

Entre los meses de marzo a junio de 2018, en el laboratorio, se identificaron los casos de diagnóstico citológico (reportes y laminillas de vidrio) positivos a TVT en caninos mediante la revisión de la base de datos virtual y física del periodo 2016-2017.

#### **3.4.1 Selección de placas de estudio citológico:**

El universo de citologías estaba representado por un total de 1316 casos de estudio citológico, de los cuales se incluyeron 37 casos diagnosticados como positivos a TVT canino desde enero de 2016 hasta noviembre de 2017, de los cuales al aplicarse los criterios de inclusión y exclusión, sin predilección o exclusión por variables como edad, raza, sexo, ubicación de la lesión o estado reproductivo, terminaron siendo 24 casos para revisión.

Estos casos fueron buscados en primera instancia en la base de datos informática del laboratorio, de ellas se obtuvieron los datos más relevantes del caso: el número de caso, sexo, raza, edad y diagnóstico del paciente. Posteriormente, se complementó la selección con las muestras almacenadas en el archivo físico del laboratorio comprobando su existencia y conservación en la bodega, de este proceso se descartaron 13 casos debido a que algunos de ellos no se encontraban en el almacén, unos no habían sido teñidos de forma adecuada y otros no tenían un método de conservación adecuado al presentar resquebrajaduras o imperfecciones que no se pudieron reparar, dejando un total de 24 casos para revisión.

#### **3.4.2 Revisión microscópica citológica y valoración de criterios de malignidad.**

Posterior a la selección de las laminillas de estudio citológico de los casos positivos a TVT y a su revisión de estado de conservación, se procedió a la revisión microscópica (Microscopio OLYMPUS CX31, I.C.T, S.L., Barcelona,

España, 2005) con los objetivos 4x, 10x y 40x. En dicha evaluación se tomaron características morfológicas claras de este tumor, estas fueron la fenotipificación de la línea celular del tumor y la caracterización de los criterios de malignidad celulares, incluyendo a este último el nivel de vacuolización de las células.

En el TVT hay que realizar algunas consideraciones para su revisión, en este estudio se tomaron casos correspondientes a tres tipos de tomas de muestras citológicas: punción por aguja fina (n=14), hisopados (n=6) e improntas (n=4) de las zonas afectadas, por lo que es normal tener fondos claros hemorrágicos con abundante exfoliación de células escamosas, o en el caso de úlceras e infecciones, la presencia de agentes inflamatorios como neutrófilos, macrófagos (histiocitos), linfocitos y plasmocitos, que pueden encontrarse fagocitando bacterias u otros agentes infecciosos.

Después se procedió a la revisión del fenotipo de cada muestra, este procedimiento determina la línea celular predominante en el tumor como ya se explicó en el marco teórico; estas neoplasias pueden pertenecer a las líneas linfocitoide, plasmocitoide y/o mixta, estas fueron determinadas evaluando la población celular de cada laminilla, descrita según la línea que predomine ( $\geq 59\%$ ).

La evaluación de características de malignidad de los tumores se realizó evaluando los siguientes criterios celulares y nucleares en base a los criterios de malignidad considerados por Meinkoth, Cowell y Tyler (2007) y adaptados en el estudio de Olivera (2013), tomando las características más representativas correspondientes a este tumor:

#### **3.4.2.1 Características celulares:**

- Anisocitosis: corresponde a la variabilidad de los tamaños de las células, se deben tomar consideraciones en procesos inflamatorios, debido a que estos alterarán las características normales de la célula, especialmente su citoplasma. En base a la variabilidad del tamaño de las células, se califica

como ausente, discreta, moderada o severa anisocitosis (Cowell, 2017; Martins, et al., 2005; Raskin & Meyer, 2015).

- Pleomorfismo: referente a la variabilidad de formas celulares encontradas en la muestra, este contempla variaciones en la cantidad de citoplasma de un grupo de células, el nivel de exfoliación y su nivel de diferenciación celular con el tejido de referencia. En base a las características observadas se determina pleomorfismo ausente, discreto, moderado o severo pleomorfismo (Cowell, 2017; Martins, et al., 2005; Raskin & Meyer, 2015).
- Vacuolas intracitoplasmáticas: se refiere a la cantidad de vacuolas que se encuentran dentro de las células neoplásicas, esta puede estar ausente, discreta, moderada o severa anisocariosis (Cowell, 2017; Martins, et al., 2005; Raskin & Meyer, 2015).
- Inflamación (neutrofilia): referente a la cantidad de neutrófilos variablemente degenerados que se encuentren en la muestra se evalúa como ausente, discreta, moderada o severa inflamación.

#### **3.4.2.2 Características nucleares:**

- Anisocariosis: evalúa la variación de los tamaños de los núcleos de las células, dependiendo de la diferencia de los tamaños de los núcleos se los refiere como ausente, discreta, moderada o severa anisocariosis (Cowell, 2017; Martins, et al., 2005; Raskin & Meyer, 2015).
- Multinucleaciones: esta característica evalúa la cantidad de células que poseen dos o más núcleos en su citoplasma y se le califica como ausente, discreta, moderada o severa cantidad de multinucleaciones (Cowell, 2017; Martins, et al., 2005; Raskin & Meyer, 2015).
- Incremento de mitosis y figuras mitóticas anormales: característica que se refiere a la cantidad de mitosis y sus variaciones tomadas de 10 campos aleatorios observados con el objetivo 40x en poblaciones celulares elevadas o evaluando la muestra completa en citologías con células

escasas. A esta se la categorizó como ausente, discreta, moderada o severa (Cowell, 2017; Martins, et al., 2005; Raskin & Meyer, 2015).

- Moldeado nuclear: este criterio evalúa la consolidación de dos o más células que se encuentran adyacentes (Cowell, 2017; Martins, et al., 2005; Raskin & Meyer, 2015).
- Nucléolo angular: se refiere a la marcación evidente del nucléolo de estas células y se describe como leve, ausente, discreto, moderado o severo (Cowell, 2017; Martins, et al., 2005; Raskin & Meyer, 2015)..

### **3.5 Análisis estadístico**

#### **3.5.1 Correlación de variables y fenotipo.**

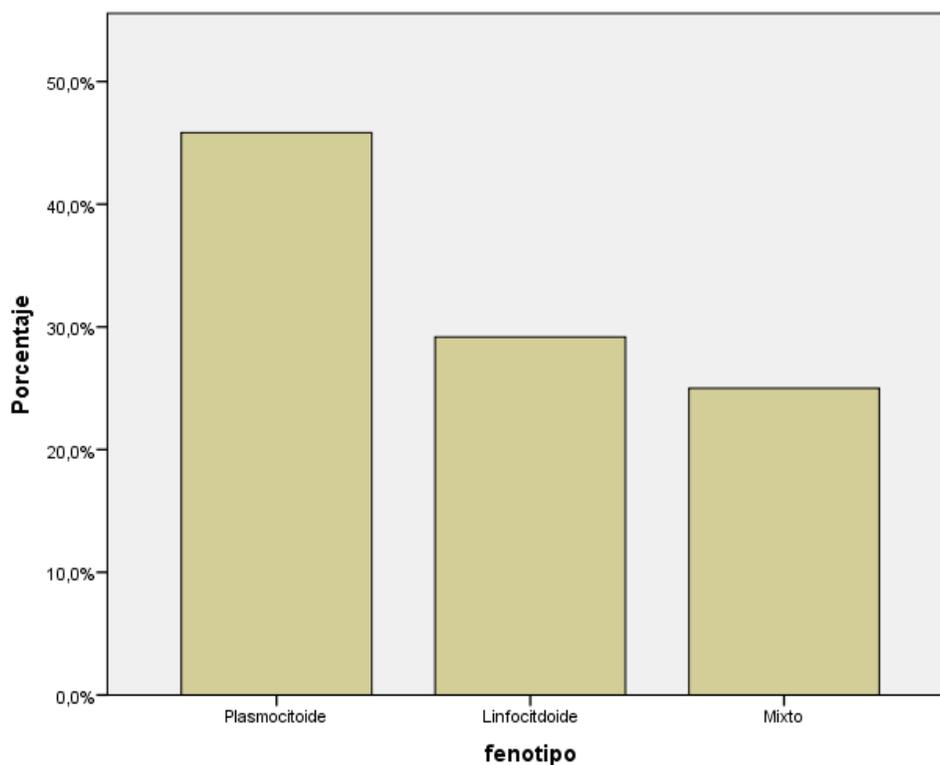
Para analizar los resultados relacionados a los datos clínicos (edad, raza y sexo), fenotipo celular y características de malignidad, se utilizó en principio estadística descriptiva. Para la correlación de cada una de las variables con las líneas celulares del tumor, se realizaron tablas de asociación, posterior a ello se manejó una prueba estadística basada en  $X^2$ , con un nivel de significancia del 5%, para establecer la existencia o no de una relación entre cada variable con los tipos celulares del tumor, para ello, se empleó el programa IBM-SPSS (x86-64 y Máquina virtual Java, Estados Unidos,).

Para realizar este análisis, se colocan las variables individualmente en una hoja de celdas generada por el programa, en dicha hoja se ingresan todos los resultados correspondientes a los resultados obtenidos en la revisión de laminillas e informes diagnósticos. Posterior a ello se selecciona el análisis estadístico que se busque realizar, en este caso una tabla cruzada que correlacione las variables y determine mediante el estudio estadístico  $X^2$  la existencia o no una relación entre las mismas.

#### 4. CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

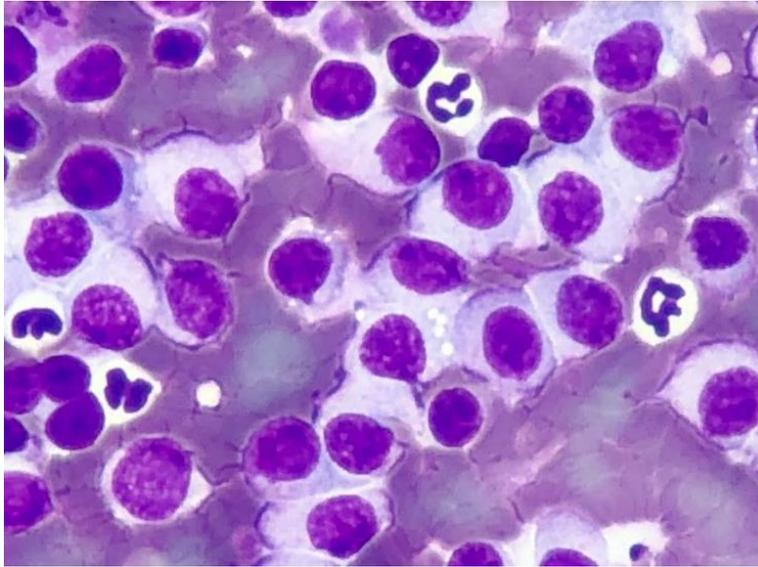
##### 4.1 Resultados.

Al revisar los fenotipos de los casos de TVT mediante estadística descriptiva, se determinó una mayor frecuencia de presentación de la línea celular plasmocitoide ( $n=11/24$ , 46%) seguido de la línea linfocitoide ( $n=7/24$ , 29%) y por último el tipo mixto ( $n=6/24$ , 25%) (Figura 10).



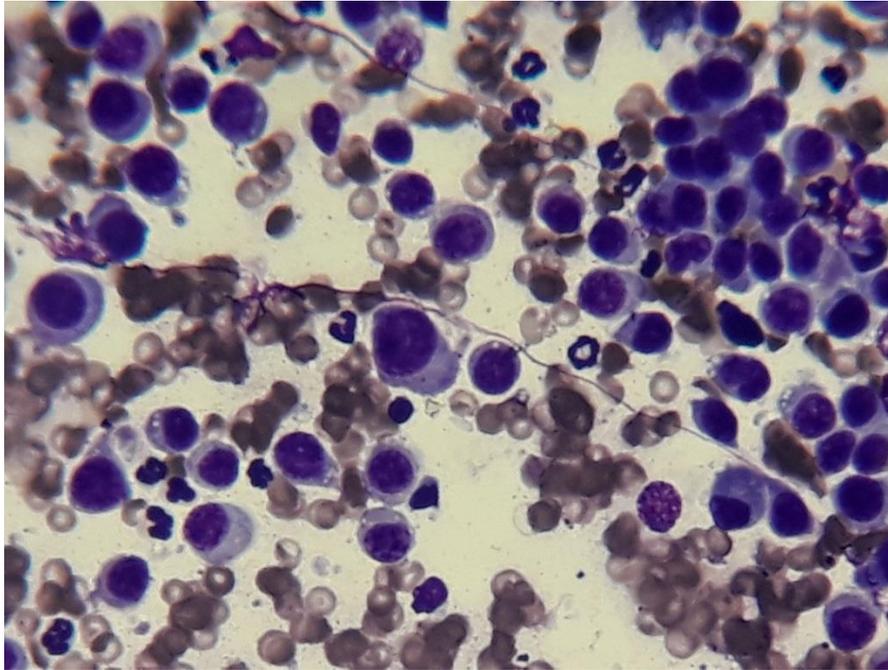
*Figura 10.* Porcentajes de presentación de cada línea celular de TVT diagnosticado por citología en los años 2016-2017.

Los hallazgos referidos a la línea plasmocitoide presentan muestras altamente pobladas de células, a excepción de un caso que presentó una población moderada y tres de escasa cantidad de células (Figura 11 y Anexo 5), sin tomar en consideración la forma de toma de muestra.



*Figura 11.* TVT de línea plasmocitoide (muestra P16-541). Esta muestra presenta una mayor cantidad de células de aspecto plasmocitoide, además se observa anisocariosis, anisocitosis y algunos neutrófilos variablemente degenerados. Técnica de microscopía de luz, aumento 40x. Tinción Diff Quick.

La línea linfocitoide presentó cuatro (48%) casos con poblaciones celulares abundantes, dos casos (29%) con poblaciones moderadas y uno con celularidad escasa (Figura 12, Anexo 5).



*Figura 12.* TVT de línea linfocitoide (muestra P16-1234). Esta muestra presenta una mayor cantidad de células de aspecto linfocitoide, además se observa anisocariosis, anisocitosis, vacuolas intracitoplasmáticas, y escasa cantidad de linfocitos y plasmocitos. Técnica de microscopía de luz, aumento 40x. Tinción Diff Quick.

La mayoría de los casos que presentaron una morfología mixta estuvieron representados por poblaciones celulares elevadas ( $n=3/6$ , 50%), 2 casos presentaron escasa celularidad y uno moderada (Figura 13).



*Figura 13.*TVT de línea mixta (muestra P17-1838). Esta muestra presenta una cantidad similar de células de aspecto linfocitoide y plasmocitoide, además se observa anisocariosis, vacuolas intracitoplasmáticas, y escasa cantidad de linfocitos y plasmocitos. Técnica de microscopía de luz, aumento 40x. Tinción Diff Quick.

Se determinó que no existe una correlación entre las variables Edad-Fenotipo ( $P > 0.05$ ), incluyendo los rangos de edad establecidos y los fenotipos celulares estudiados (Tabla 1). El rango de edad de 4 a 7 años es el que mayor cantidad de casos mostró, presentando el fenotipo mixto como el que más se presenta (Anexo 1 y Figura 14). Con respecto a Raza-Fenotipo, también se determinó que no existe una relación de variables ( $P > 0.05$ ), la raza mestiza fue la que mayor cantidad de casos presenta ( $n=14/24$ , 58%) con un predominio de presentación de la línea plasmocitoide en 8 (Anexo 2 y Figura 15). El Fenotipo-Sexo mostro tampoco tener una relación significativa ( $P > 0.05$ ), la mayor cantidad de casos presentados fue en machos (16), con una mayor presentación de líneas celulares mixtas (6) (Anexo 3 y Figura 16).



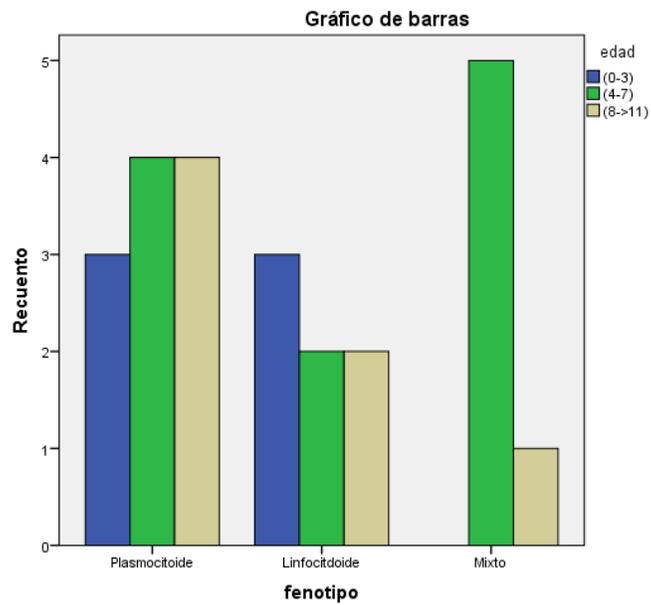


Figura 14. Relación de líneas celulares de TVT y la variable de rangos de edad presentados en el estudio.

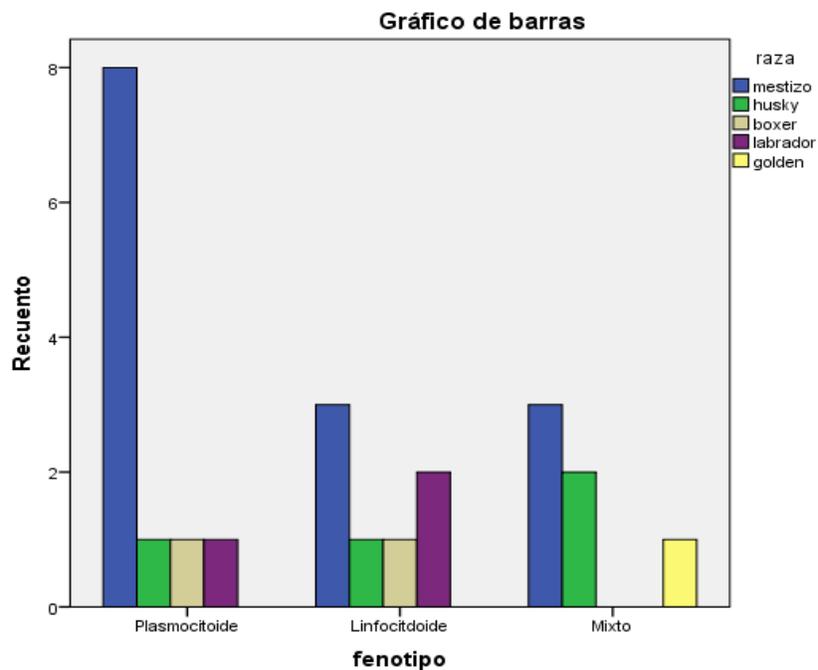
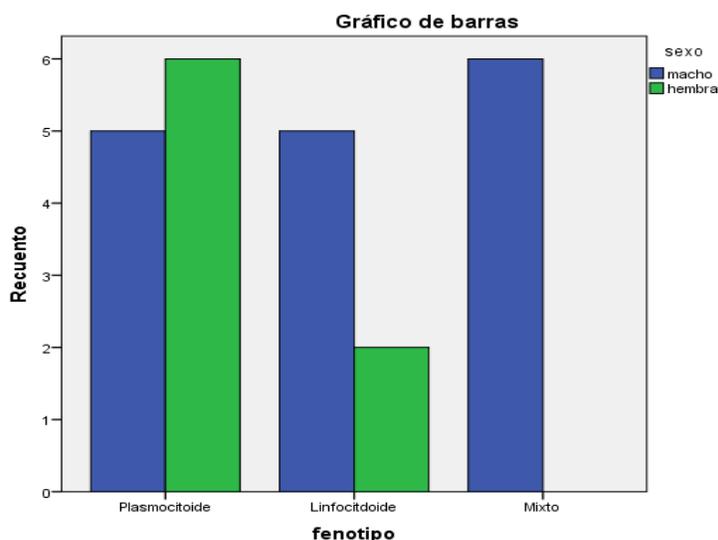


Figura 15. Relación de líneas celulares de TVT y la variable razas de perros presentadas en el estudio.



*Figura 16.* Relación de líneas celulares de TVT y la variable sexo del estudio.

La evaluación de las características de malignidad se realizó en base de estadística descriptiva y han sido descritas en números relativos. Se observó anisocitosis (Figura 17) en 24 (100%) de casos, con valoración discreta en 15 (63%), moderada en 4 (17%) y severa en 5 (20%), estos últimos con mayor presentación en la línea mixta. El pleomorfismo presentó iguales características que la anisocitosis. La anisocariosis (Figura 17) se presentó en los 24 (100%) casos, este criterio presentó una valoración discreta en 14 (58%), 6 (25%) moderados y 4 (17%) severos. Se encontraron multinucleaciones (Figura 28) en 23 (99%) de los cuales la 12 (52%) fue categorizada discreta y 11 (48%) moderada. Las figuras mitóticas atípicas (Figura 19) se encontraron en 22 (90%), la presentación discreta fue la mayormente encontrada con 16 (72.73%), seguida por 5 (22.73%) casos severos y 1 moderado (4.55%). Se encontraron 23 (98.83%) casos que presentaron moldeado nuclear (Figura 20), con una presentación discreta en 20 (87%) y 3 (13%) moderadas. Nucléolos angulares evidentes (Figura 18) se encontraron en 18 (75%), con 14 discretos (78%), 3 (17%) moderados y 1 (5.56%) severo. Por último, se observó vacuolización (Figuras 20 y 21) en los 24 (100%) casos con un predominio en las líneas mixta y plasmocitoide, con la mayor

presentación de los casos discretos en 12 (50%), 7 (29%) moderados y 5 (21%) de severos (Tabla 2).

Tabla 2.

*Distribución de muestras entre la malignidad. (Modificado de Raskin & Meyer, 2015).*

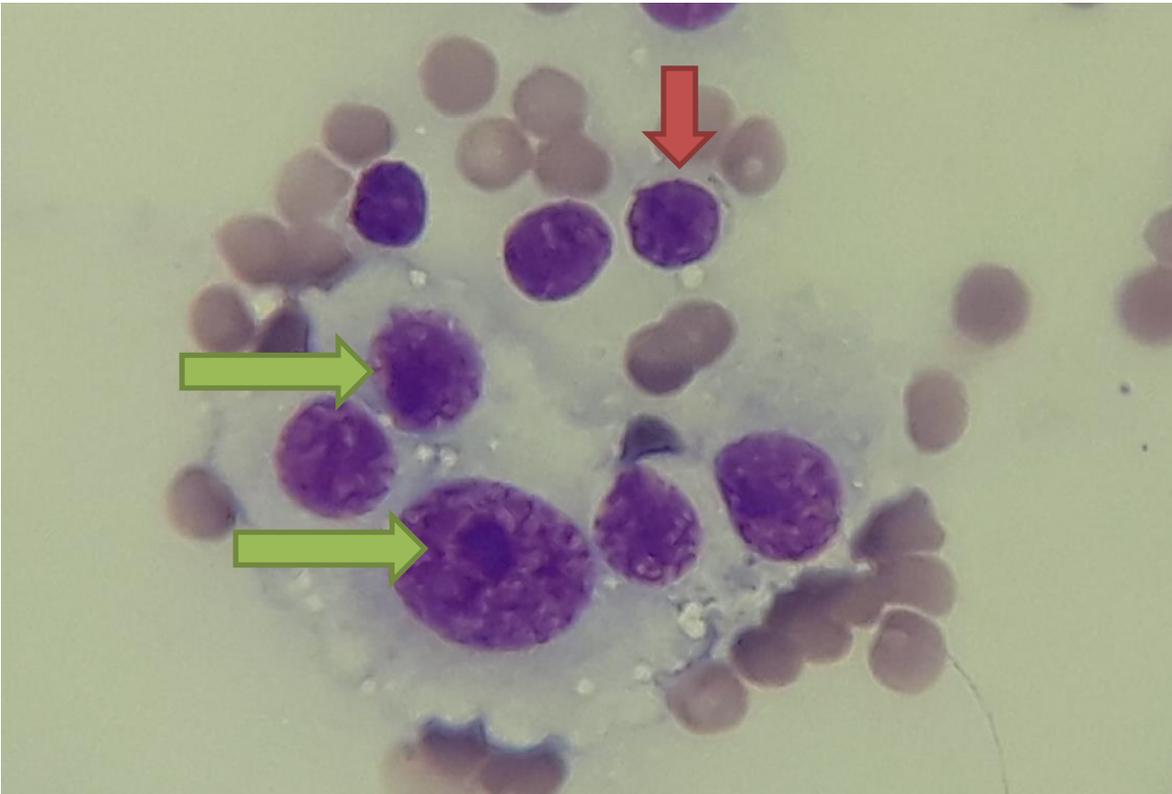
Criterio	Ausente			Discreto			Moderado			Severo		
	P	L	M	P	L	M	P	L	M	P	L	M
Criterios celulares (n=24)												
Inflamación	2	4	-	7	2	1	1	1	-	1	-	1
Anisocitosis	-	-	-	6	7	2	4	-	-	2	-	3
Pleomorfismo	-	-	-	6	7	2	4	-	-	2	-	3
Vacuolas intracitoplasmáticas	-	-	-	4	6	2	4	1	2	3	-	2
Criterios nucleares (n=24)												
Anisocariosis	2	-	2	5	-	1	4	7	3	-	-	-
Multinucleaciones	1	-	-	6	3	3	4	4	3	-	-	-
Figuras mitóticas	1	2	1	1	-	-	9	4	4	-	1	1
Moldeado nuclear	-	-	-	3	-	6	7	7	-	1	-	-
Nucléolo angular	4	-	2	4	7	4	2	-	-	1	-	-

Nota (P=plasmocitoide, L=linfocitoide, M=mixto)

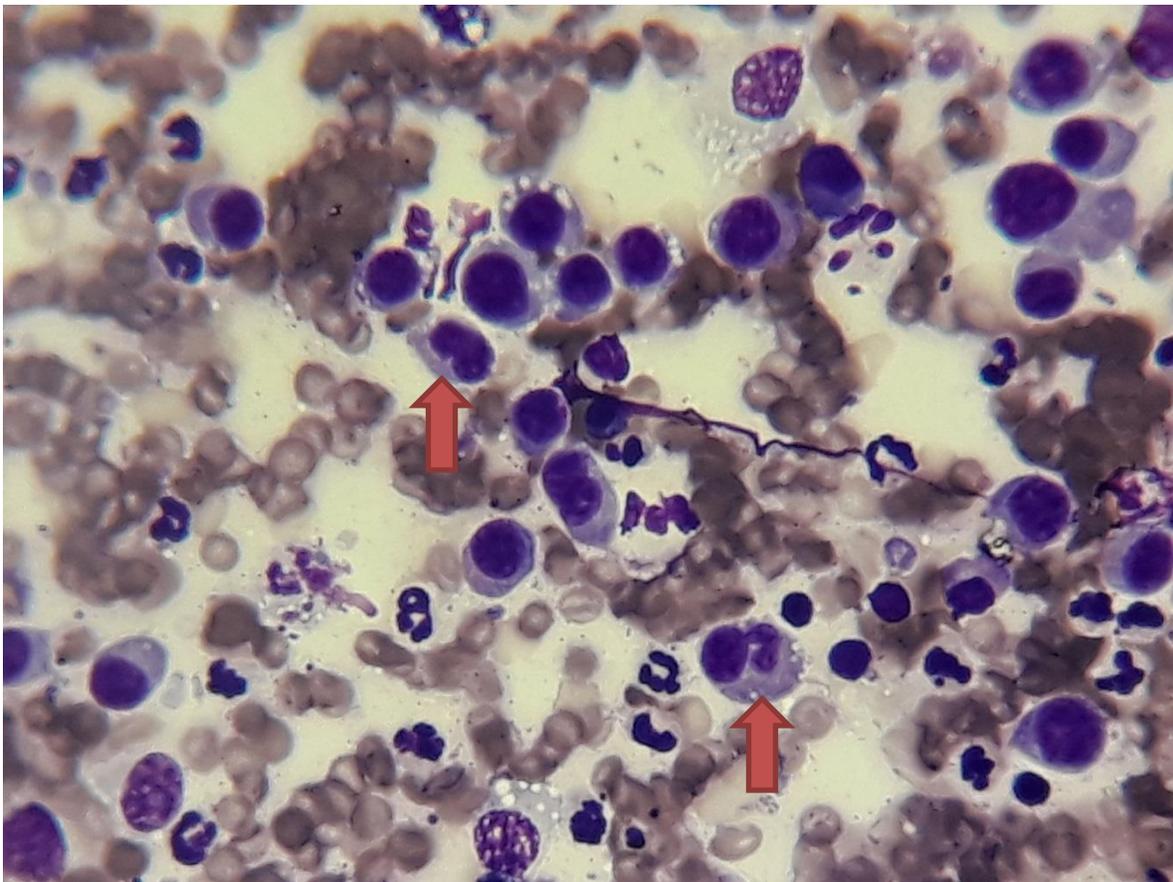
Los casos de tipo plasmocitoide mostraron en su mayoría poblaciones celulares con posiciones nucleares excéntricas y mayor cantidad de citoplasma. Otros resultados con respecto a esta línea celular muestran que la mayoría presentan escasa inflamación. Este fenotipo mostró un pleomorfismo discreto a moderado, sin embargo, también se encontraron dos casos con una variabilidad de tamaños más marcada, además de una mayor presencia de vacuolas intracitoplasmáticas.

La morfología del fenotipo linfocitoide estuvo caracterizada por un pleomorfismo discreto, para células que presentaban un núcleo central y con escaso citoplasma. Además este tipo de celularidad presentó una vacuolización discreta, a excepción de un caso que resulto ser moderada.

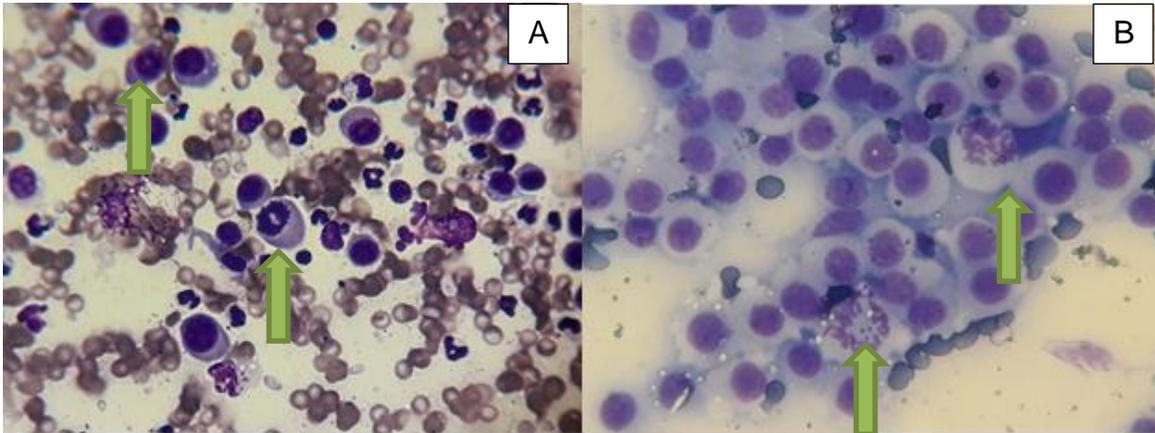
La línea celular mixta presento un pleomorfismo más marcado (4/6) y una presentación vacuolar indistinta, es decir, algunos presentaban mayor o menor cantidad de vacuolas que los demás.



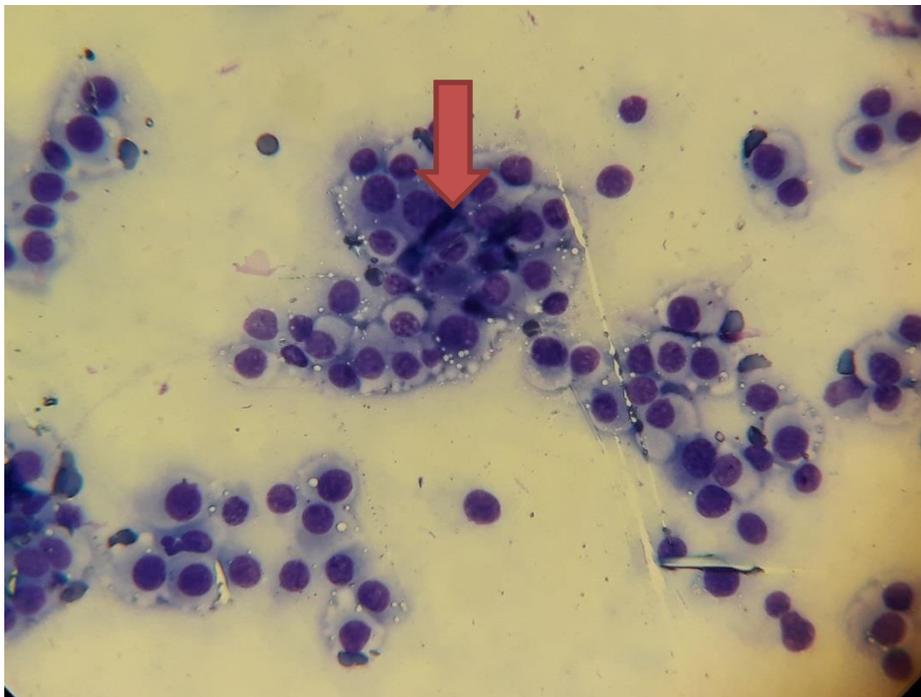
*Figura 17.* Nucléolos evidentes-Nucléolo angular-Anisocitosis-Anisocariosis (P17-1381). Se observan dos nucléolos evidentes (flecha verde) en células de variable tamaño celular y nuclear, además en una de ellas se observa la formación de dos nucléolos (flecha roja). Técnica de microscopía de luz, aumento 40x. Tinción Diff Quick.



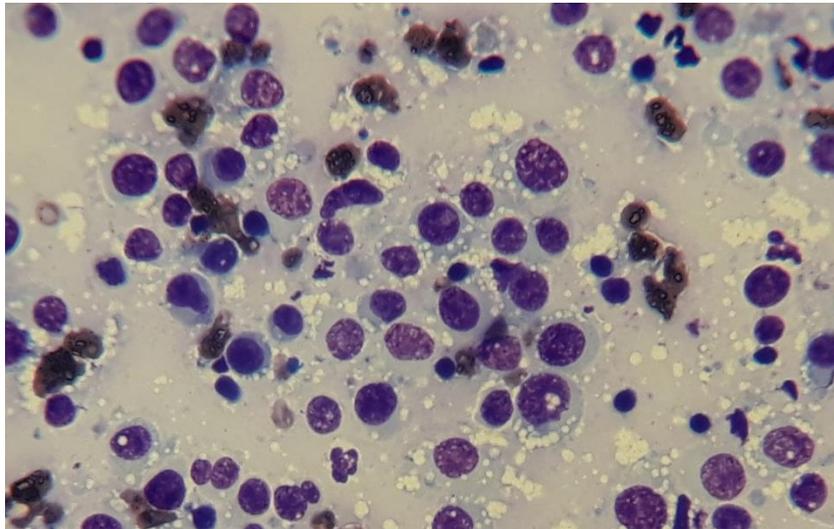
*Figura 18.* Multinucleación y Binucleación (P17-1381). Se observan dos células que presentan una binucleación y una multinucleación (flechas rojas). Técnica de microscopía de luz, aumento 40x. Tinción Diff Quick.



*Figura 19.* Mitosis atípicas (P16-545). Se aprecian dos figuras mitóticas atípicas (flechas verdes) en una muestra de TVT de línea plasmocitoide. B (P17-1137). Se observan dos figuras mitóticas (flechas verdes) en una muestra de TVT de línea linfocitoide. Técnica de microscopía de luz, aumento 40x. Tinción Diff Quick.



*Figura 20.* Vacuolas intracitoplasmáticas - Moldeado nuclear (P17-1357). Se muestran células compactadas (flecha roja) y células con variable cantidad de vacuolas intracitoplasmáticas. Técnica de microscopía de luz, aumento 40x. Tinción Diff Quick.



*Figura 21.* Vacuolas intracitoplasmáticas (P17-545). Elevada cantidad de vacuolas intracitoplasmáticas acompañadas de características de anisocitosis y anisocariosis. Técnica de microscopía de luz, aumento 40x. Tinción Diff Quick.

Los resultados obtenidos de los 24 casos de TVT revisados, muestran que 8 pacientes eran hembras (33%) y 16 eran machos (67%). La edad de los animales se encontraba en el rango de 1-12 años de edad, el rango de mayor afectación se encontró entre 4 y 7 años (50%). La mayor cantidad de perros afectados fueron mestizos (58%), por otro lado, los animales de raza (42%) (Golden Retriever 4%, Bóxer 8%, Labrador 13% y Husky 17%) (Figura 10).

#### **4.2 Discusión.**

El presente estudio tuvo como resultados la obtención de 24 casos positivos de TVT en el periodo de dos años, en dichos años los pacientes mayormente afectados fueron machos, de raza mestiza, jóvenes que se encontraban en los rangos de edad entre 4 y 7 años. Los criterios de malignidad evaluados fueron: anisocitosis, pleomorfismo, anisocariosis, mitosis atípicas, vacuolización, moldeado nuclear, nucléolo angular y multinucleaciones. Dichos criterios se presentaron en la mayoría de casos diagnosticados; sin embargo, se tomó en consideración que muchas de las muestras presentaban celularidad moderadas, además se ha categorizado a este tumor como una neoplasia relativamente benigna.

Los estudios realizados en Brasil por do Oliveira y de Amaral (2013 & 2007); y la investigación de Pacheco en México (2003) mostraron las distintas realidades de presentación de este tumor en los diferentes entornos.

El estudio llevado a cabo en México demostró que la edad es un factor de riesgo con respecto a la presentación de esta neoplasia. Por otro lado, los estudios realizados en Brasil muestran una relación no significativa en la edad de presentación, sin embargo, muestran una coincidencia, con la presente investigación, al mostrar que la mayor cantidad de pacientes padecen de este tumor en los rangos de edad entre 4-7 años (de Oliveira Lima, et al., 2013; Do Amaral, et al., 2007; Ortega-Pacheco, et al., 2003).

En todos los estudios mencionados previamente se demostró que ningún sexo está dispuesto a la presentación del tumor, sin embargo, tanto en Brasil como en México se presentó una mayor cantidad de casos en hembras, mientras que la presente investigación mostró una mayor afección de los machos (de Oliveira Lima, et al., 2013; Do Amaral, et al., 2007; Ortega-Pacheco, et al., 2003).

En esta investigación, como en la de Oliveira (2013) y de Amaral (2007), se demostró que no existe una relación significativa entre la raza y el TVT, no obstante, la raza que se ve mayormente afectada es la mestiza. México no realizó una investigación con respecto a la raza de los pacientes (Ortega-Pacheco, et al., 2003).

El estudio guiado por Pacheco (2003) no evaluó las características de malignidad de este tumor o su relación con sus fenotipos. Amaral (2007) y Oliveira (2013) por otra parte, apoyados por sus gobiernos autónomos provinciales, estandarizaron criterios evaluables de este tumor y utilizaron la prueba estadística Kruskal Wallis para determinar la relación que estas tienen con los fenotipos del tumor, estudio que no se pudo llevar a cabo en esta investigación.

Los resultados obtenidos por Gonzales (2000), demuestran características citológicas similares a las obtenidas en este estudio. Poblaciones celulares elevadas, con células que poseían núcleos con cromatina densa, nucléolos evidentes, además de muestras que presentaban elevada inflamación de tipo neutrofílica y linfoplasmocitaria. Sin embargo, en este tiempo aún no se le prestaba importancia al fenotipo celular del tumor, por lo que no fue incluido dentro de las características morfológicas estudiadas.

Lima (2016) obtuvo resultados en 20 perros que demostraron que la línea plasmocitoide es la de mayor presentación con un 45% de pacientes, seguida por un 30% de linfocitoide y 25% mixtos. De igual manera en este estudio se establecieron características similares.

Debido al tiempo dispuesto para la realización de este estudio, se vio obligado a omitir los exámenes histopatológicos debido a que se tomaron casos previamente diagnosticados y de forma retrospectiva, mismos que no poseían un estudio de confirmación. Citando las conclusiones del estudio de Amaral (2007), la citología es un método sencillo de realizar que permite la distinción de los fenotipos celulares sin la necesidad de ocupar equipos costosos, sin embargo para establecer las características de malignidad y ser más precisos con la morfología del tumor se tienen que realizar estudios histopatológicos e inmunohistoquímicos con el fin de identificar las estirpes resistentes a antibioticoterapia.

Con relación a los criterios de malignidad, estudios inmunohistoquímicos de Regiones Organizadoras Nucleolares Argénticas (AgNORs) son de gran utilidad para determinar los criterios de relación núcleo-nucleólo. Tal es el caso de la investigación realizada en Perú por Rodriguez y su equipo en 2010, en el cual a través de esta técnica se comprobó la presencia en las células neoplásicas del Tumor Venéreo Transmisible canino con mayor presentación en el núcleo. Los AgNORs indican mayor comportamiento maligno de las células del tumor a medida que estos incrementan en el muestreo realizado.

**4.3 Limitantes.**

- Se optó por realizar un estudio de tipo retrospectivo debido a que no se tenía una certeza de la cantidad de pacientes que pudiesen presentarse en 3 meses.
- La información existente sobre este tumor en este entorno es relativamente baja, debido a que este es el primer estudio que revisa la relación entre características de malignidad celular y variables como edad, raza y sexo con los fenotipos que presenta esta neoplasia.

## 5. CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 5.1 Conclusiones.

El examen citopatológico es un estudio diagnóstico que permite realizar la caracterización de patrones morfológicos y criterios de malignidad de este tumor sin necesidad de recurrir a un estudio histopatológico o de inmunohistoquímica.

Se tomaron 37 casos positivos a TVT diagnosticados en el laboratorio en los años 2016 y 2017, de las bases de datos física y virtual, de dichos casos se descartaron 13 casos al aplicar criterios de inclusión y exclusión dejando un total de 24 casos para revisión.

De los 24 casos revisados, se determinó que el fenotipo o línea morfológica celular del tumor de mayor presentación fue el plasmocitoide.

Se observó también que la mayor cantidad de animales afectados corresponden a machos que se encuentran en el rango de edad de 4 a 7 años y que son mestizos.

Se demostró que no existe una relación entre edad, raza o sexo y los fenotipos celulares de este tumor.

Se determinaron las características de malignidad con mayor frecuencia de presentación en los pacientes del laboratorio.

### 5.2 Recomendaciones

Es importante realizar un estudio de este tipo de forma prospectiva, además de realizar otros tipos de estudios complementarios como la inmunohistoquímica.

Se puede realizar este tipo de estudio en cualquier tumor, por lo que es recomendable tomar en consideración un futuro estudio con todos los tipos de tumores epiteliales, mesenquimatosas y de células redondas, sin embargo hay que valorar los tiempos en los que se llevaría a cabo dicho estudio.

## REFERENCIAS

- Amaral, A. S. d. (2005). Tumor venéreo transmissível canino: critérios citológicos de malignidade e caracterização citomorfológica correlacionada a imunocitoquímica e lesões de DNA. Tomado del Repositorio UNESP.
- Birhan, G., y Chanie, M. (2015). A Review on Canine Transmissible Venereal Tumor: Morphologic to Biochemical and Molecular Diagnosis. *Acad J Anim Diseases*, 4(3), 185-195. Recuperada de: DOI: 10.5829/idosi.ajad.2015.4.3.95245
- Cora, R., Gal, A. F., Taulescu, M., Tăbăran, F., Nagy, A., Negru, M., & Cătoi, C. (2017). Epidemiological Aspects and Differential Diagnosis of the Cutaneous Round Cell Tumors in Dogs. *Bulletin of the University of Agricultural Sciences & Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Veterinary Medicine*, 74(1).
- Das, U., & Das, A. K. (2000). Review of canine transmissible venereal sarcoma. *Veterinary research communications*, 24(8), 545-556.
- De la Sota, P., Dàmico, G., Adagio, L. M., Noia, M. A., & Gobello, M. C. (2017). Tumor venéreo transmissible en el perro. *Ciencia Veterinaria*, 6(1), 42-49.
- De Lorimier L, Fan T. 2007. Tumor Venéreo Transmissible canino. En: Withrow S, Vail D. Oncología clínica de pequeños animales. 4ta ed. España: Multimédica ediciones. p 781-784.
- de Oliveira Lima, C. R., Rabelo, R. E., Vulcani, V. A. S., Furtado, A. P., Helrigel, P. A., Brito, L. A. B., & de MOURA, V. M. B. D. (2013). Padrões morfológicos e critérios de malignidade do tumor venéreo transmissível aos exames citopatológico e histopatológico. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 50(3), 238-246. Recuperada de DOI: <http://dx.doi.org/10.11606/issn.1678-4456.v50i3p238-246>
- De Nicola DB (2014). Round Cells, p. 70-79. In: Cowell RL, Valenciano AC (Eds.). Cowell and Tyler's Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat. 4th ed. Elsevier, St Louis

- Do Amaral, A. S., Bassani-Silva, S., Ferreira, I., da Fonseca, L. S., de Andrade, F. H. E., Gaspar, L. F. J., & Rocha, N. S. (2007). Cytomorphological characterization of transmissible canine venereal tumor. *Revista Portuguesa de ciências veterinárias*, 103(8).
- Duarte, A. R., & Albertus, J. C. C. (2014). *Atlas de tumores: oncología en la clínica diaria*: Asís Biomédia.
- Eze, C. A., Anyanwu, H., & Kene, R. (2007). Review of canine transmissible venereal tumour (TVT) in dogs. *Nigerian Veterinary Journal*, 28(1), 54-70. Recuperada de: DOI: <http://dx.doi.org/10.4314/nvj.v28i1.3544>
- Fernández, C., Jiménez de la Puerta, J., & Aguilar, A. (2003). Citología cutánea veterinaria. *Clínica veterinaria de pequeños animales*, 23(2), 0075-0087.
- Fonseca, L. S., Mota, L. S., Colodel, M. M., Ferreira, I., Brandão, S., Valéria, C., & Rocha, N. S. (2012). Spontaneous canine transmissible venereal tumor: association between different phenotypes and the insertion LINE-1/c-myc. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 25(3), 402-408.
- Frampton, D., Schwenzer, H., Marino, G., Butcher, L. M., Pollara, G., Kriston-Vizi, J., . . . Ketteler, R. (2018). Molecular signatures of regression of the canine transmissible venereal tumor. *Cancer cell*, 33(4), 620-633. e626. Recuperada de: DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2018.03.003>
- Gaspar, L., Amaral, A., Bassani-Silva, S., & Rocha, N. S. (2009). Imunorreatividade à glicoproteína-p nos diferentes tipos citomorfológicos de tumor venéreo transmissível canino. *Veterinária em Foco*, 6(2), 140-146. Recuperada de DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-736x2016000900009>
- González, C., Cepeda, R., Flores, E., Cattaneo, G., & Reyes, S. (2003). Apoptosis en tumor venéreo transmisibile del canino en fase de crecimiento progresivo y durante regresión inducida por vincristina. *Avances en Ciencias Veterinarias*, 18(1-2). DOI: 10.5354/0719-5273.2010.9199
- Gonzalez, C. M., Griffey, S. M., Naydan, D. K., Flores, E., Cepeda, R., Cattaneo, G., & Madewell, B. R. (2000). Canine transmissible venereal tumour: a morphological and immunohistochemical study of 11 tumours in growth

- phase and during regression after chemotherapy. *Journal of Comparative Pathology*, 122(4), 241-248. Recuperada de DOI: 10.1053/jcpa.1999.0366
- Gross, T. L., Ihrke, P. J., Walder, E. J., & Affolter, V. K. (2008). *Skin diseases of the dog and cat: clinical and histopathologic diagnosis*: John Wiley & Sons.
- Lima, C. R. O., Faleiro, M. B. R., Rabelo, R. E., Vulcani, V. A. S., Rubini, M. R., Torres, F. A. G., & Moura, V. M. B. D. (2016). Insertion of the LINE-1 element in the C-MYC gene and immunoreactivity of C-MYC, p53, p21 and p27 proteins in different morphological patterns of the canine TVT. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 68(3), 658-666 Recuperada de: DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1678-4162-8750>.
- Loyola, J. 2014. Tumor venéreo transmisible en caninos, presentación clínica, diagnóstico y tratamiento. Tesis de grado para optar al título de Médico Veterinario Zootecnista. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú. Pp 50. Recuperada de DOI: 10.15446/rfmvz.v64n3.68695
- Lombard CH, Cabanie P. Le sarcome de Sticker. *Rev Med Vet* 1968; 119(6):565-586
- Martínez López, M. F. (2015). *Evaluación de los niveles séricos de eritroyetina, interpretación citológica e histopatológica, hemograma y morfología neoplásica para el diagnóstico del tumor venéreo transmisible en caninos identificados en la provincia de Imbabura*. Quito: Universidad de las Américas, 2015.
- Martins, M. M., de Souza, F., Ferreira, F., & Gobello, C. (2005). The canine transmissible venereal tumor: etiology, pathology, diagnosis and treatment. *International Veterinary Information Service*.
- Miller, W. H., Griffin, C. E., Campbell, K. L., & Muller, G. H. (2013). *Muller and Kirk's Small Animal Dermatology7: Muller and Kirk's Small Animal Dermatology*: Elsevier Health Sciences.
- Moulton, J. E. (1978). *Tumors in domestic animals*: Univ of California Press.

- Mukaratirwa, S., & Gruys, E. (2003). Canine transmissible venereal tumour: cytogenetic origin, immunophenotype, and immunobiology. A review. *Veterinary Quarterly*, 25(3), pág. 101-111.
- Murchison, E. (2009). Clonally transmissible cancers in dogs and Tasmanian devils. *Oncogene*, 27(S2), S19. DOI: 10.1038/onc.2009.350
- Murray, Q.M., James, H. and Martin, W.B., 1969. A study of the cytology and karyotype of the canine transmissible venereal tumour. Recuperado de: *Veterinary Science*, 10, pág 565-568
- Ortega-Pacheco, A., Acevedo-Arcique, M., Sauri-Arceo, C., Bolio-González, M., & Gutiérrez-Blanco, E. (2003). Prevalencia de tumor venéreo transmisible en perros callejeros de la ciudad de Mérida, Yucatán, México. *Revista Biomédica*, 14(2), 83-87.
- Ortiz Calle, K. A., & Quito Saldaña, M. A. (2013). *Estudio histopatológico (biopsias) de masas cutáneas en caninos de las clínicas veterinarias de la Ciudad de Cuenca*.
- Ortiz, C. E. A., & López, J. H. F. (2008). Estudio retrospectivo de masas cutáneas neoplásicas en caninos diagnosticadas histopatológicamente en la Universidad de La Salle (1999-2003). *Revista de Medicina Veterinaria*(16), 111-120. DOI: <https://doi.org/10.19052/mv.1444>
- Pineda Cruz, J., Romero Núñez, C., Mendoza Martínez, G. D., García Contreras, C. A., Plata Pérez, F., Martínez Jiménez, A., & Ramírez, N. (2010). Tumor venéreo transmisible en caninos del área metropolitana de la ciudad de México. *Revista Científica*, 20(4), 362-366.
- Raskin, R. E., & Meyer, D. (2015). *Canine and Feline Cytology-E-Book: A Color Atlas and Interpretation Guide*: Elsevier Health Sciences.
- Rodríguez, I., Perales, C., Chavera, C., & Díaz, C. (2010). Caracterización de las regiones organizadoras nucleolares en las células del tumor venéreo

- transmisible en caninos: Estudio histoquímico. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 21(1), 48-53.
- Sanchez Rojas, I., Canizales Marín, S., Casanova Salazar, C., Guzmán Peralta, A., & Zootecnista, M. V. (2017). Aparición primaria de tumor venéreo transmisible (TVT) en cavidad nasal de un canino hembra. Reporte de caso clínico. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*, 18(3), 1-7.
- Santos F, Vasconcelos A, Moro L, Nunes J, Paixão T. 2001. Apoptose no tumor venéreo transmissível canino: características morfológicas e evidenciación bioquímica. *Arq Bras Med Vet Zoot.* 53(5):557-562.
- Sapp, W., & Adams, E. (1970). C-type viral particles in canine venereal tumor cell cultures. *American journal of veterinary research*, 31, 1321-1323.
- Vail, D. M., & Withrow, S. J. (2009). Tumores de la piel y tejidos subcutáneos. *Oncología Clínica de Pequeños Animales. 4th ed. Barcelona-España*, 371-8.
- Valenciano, A. C., & Cowell, R. L. (2013). *Cowell and Tyler's Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat-E-Book*: Elsevier Health Sciences.
- Vergaray, M., & Zuriza, N. (2006). Frecuencia del tumor venéreo transmisible en caninos: casuística del Laboratorio de Histología, Embriología y Patología Veterinaria-Facultad de Medicina Veterinaria-Universidad Nacional Mayor de San Marcos (periodo 1998-2004).
- Zachary, J. F., & McGavin, M. D. (2013). *Pathologic Basis of Veterinary Disease-E-Book*: Elsevier Health Sciences.
- Zinkl J. 2009. Tracto reproductor masculino: Próstata, testículos y semen. En: Cowell R, Tyler R, Meinkoth J, DeNicola D. Diagnóstico citológico y hematológico del perro y el gato. 3ª ed España: Elsevier. p 366-374.

**ANEXOS**

**ANEXO 1. ANALISIS ESTADÍSTICO ( $\chi^2$ ) REALIZADO PARA ESTABLECER LA RELACIÓN ENTRE LAS LÍNEAS CELULARES DE TVT Y LAS EDADES DE LOS PERROS POSITIVOS A TVT DIAGNOSTICADOS EN EL LABORATORIO EN EL PERIODO 2016-2017.**

**Resumen de procesamiento de casos**

	Casos					
	Válido		Perdidos		Total	
	N	Porcentaje	N	Porcentaje	N	Porcentaje
Fenotipo * Edad	24	100,0%	0	0,0%	24	100,0%

**Fenotipo\*edad tabulación cruzada**

Recuento

		Edad (años)			Total
		(0-3)	(4-7)	(8->11)	
Fenotipo	Plasmocitoide	3	4	4	11
	Linfocitoide	3	2	2	7
	Mixto	0	5	1	6
Total		6	11	7	24

**Pruebas de chi-cuadrado**

	Valor	gl	Sig. asintótica (2 caras)
Chi-cuadrado de Pearson	5,444 <sup>a</sup>	4	,245
Razón de verosimilitud	6,555	4	,161
Asociación lineal por lineal	,005	1	,945
N de casos válidos	24		

a. 8 casillas (88,9%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es 1,50.

□

**ANEXO 2. ANALISIS ESTADÍSTICO ( $\chi^2$ ) REALIZADO PARA ESTABLECER LA RELACIÓN ENTRE LAS LÍNEAS CELULARES DE TVT Y LAS RAZAS DE LOS PERROS POSITIVOS A TVT DIAGNOSTICADOS EN EL LABORATORIO EN EL PERIODO 2016-2017.**

**Resumen de procesamiento de casos**

	Casos					
	Válido		Perdidos		Total	
	N	Porcentaje	N	Porcentaje	N	Porcentaje
fenotipo*raza	24	100,0%	0	0,0%	24	100,0%

**fenotipo\*raza tabulación cruzada**

Recuento

	Raza					Total
	Mestizo	Husky	Bóxer	labrador	Golden	
Fenotipo Plasmocitoide	8	1	1	1	0	11
Linfocitoide	3	1	1	2	0	7
Mixto	3	2	0	0	1	6
Total	14	4	2	3	1	24

**Pruebas de chi-cuadrado**

	Valor	gl	Sig. asintótica (2 caras)
Chi-cuadrado de Pearson	8,256 <sup>a</sup>	8	,409
Razón de verosimilitud	8,700	8	,368
Asociación lineal por lineal	,753	1	,385
N de casos válidos	24		

a. 14 casillas (93,3%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es ,25.

**ANEXO 3. ANALISIS ESTADÍSTICO ( $\chi^2$ ) REALIZADO PARA ESTABLECER LA RELACIÓN ENTRE LAS LÍNEAS CELULARES DE TVT Y LOS SEXOS DE LOS PERROS POSITIVOS A TVT DIAGNOSTICADOS EN EL LABORATORIO EN EL PERIODO 2016-2017.**

**Resumen de procesamiento de casos**

	Casos					
	Válido		Perdidos		Total	
	N	Porcentaje	N	Porcentaje	N	Porcentaje
fenotipo* sexo	24	100,0%	0	0,0%	24	100,0%

**fenotipo\*sexo tabulación cruzada**

Recuento

		Sexo		Total
		Macho	Hembra	
Fenotipo	Plasmocitoide	5	6	11
	Linfocitoide	5	2	7
	Mixto	6	0	6
Total		16	8	24

**Pruebas de chi-cuadrado**

	Valor	gl	Sig. asintótica (2 caras)
Chi-cuadrado de Pearson	5,299 <sup>a</sup>	2	,071
Razón de verosimilitud	7,019	2	,030
Asociación lineal por lineal	5,074	1	,024
N de casos válidos	24		

a. 5 casillas (83,3%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es 2,00.

**ANEXO 4. TABLA EXPORTADA DE EXCEL QUE MUESTRA LOS RESULTADOS GENERALES DE LA BÚSQUEDA DE INFORMACIÓN DE LOS CASOS POSITIVOS A TVT DE LA BASE DE DATOS VIRTUAL DEL LABORATORIO.**

TABLA RESUMEN DE HALLAZGOS Y DATOS				
N° de placa	Raza	Edad	Género	Línea celular del tumor
P16-280	Husky	1 año	Hembra	Plasmocitoide
P16-545	Mestiza	5 años	Hembra	Plasmocitoide
P17-084	Mestiza	4 años	Hembra	Plasmocitoide
P16-1061	Boxer	3 años	Macho	Linfocitoide
P17-541	Mestiza	4 años	Hembra	Plasmocitoide
P17-1290	Mestiza	2 años	Hembra	Linfocitoide
P17-1791	Mestiza	12 años	Hembra	Plasmocitoide
P16-768	Mestizo	8 años	Macho	Plasmocitoide
P16-1067	Mestizo	4 años	Macho	Linfocitoide
P16-1234	Mestizo	4 años	Macho	Linfocitoide
P17-022	Mestizo	5 años	Macho	Plasmocitoide
P17-1053	Golden Retriever	4 años	Macho	Mixto
P17-1357	Husky	5 años	Macho	Linfocitoide
P17-1412	Husky	4 años	Macho	Mixto
P17-1267	Mestizo	5 años	Macho	Mixto
P17-1134	Labrador	1 año	Macho	Linfocitoide
P17-1381	Boxer	11 años	Macho	Plasmocitoide
P17-1137	Labrador	8 años	Macho	Linfocitoide
P17-1563	Mestizo	9 años	Macho	Mixto
P17-1729	Labrador	3 años	Macho	Plasmocitoide
P17-1838	Mestizo	7 años	Macho	Mixto
P17-454	Mestizo	3 años	Macho	Plasmocitoide
P16-691	Husky	8 años	Hembra	Linfocitoide
P17-192	Mestiza	10 años	Hembra	Plasmocitoide
Edades		1 *2	Machos	16 66,70%
		2 *1	Hembras	8 33,30%
		3 *3		
		4 *6		
		5 *4	16,67% Husky: 4	2M-2H
			58,33% Mestizo: 14	8M-6H
		7 *1	8,33% Boxer: 2	2M
		8 *3	4,16% Golden Retriever: 1	M
		9 *1	12,50% Labrador: 3	3M
		10 *1		
		11 *1		
		12 *1		
Edad de mayor presentación	4 años			
Edad media mayor de presentación	3-5 años		La edad promedio de presentación es	5,25
Rango	1-12 años		1-1-2-3-3-3-4-4-4-4-4-4-4-4-5-5	4 moda
Edad media de menor presentación	3-12 años			
Edad de no presentación	6 años			
Existen más machos afectados				
La raza más afectada resulta ser mestiza de los cuales los más afectados son los machos				



## **ANEXO 6. MATERIALES**

### **De campo**

- Ninguno

### **De laboratorio**

- Reportes diagnósticos con su correspondiente laminilla de estudio citopatológico.

### **De oficina**

- Computadora de escritorio.
- Marcadores y rotuladores.
- Esferográficos.
- Cuaderno de apuntes.

