

2015

## **Estudio de Mastocitoma Cutáneo Canino y uso de la prueba de inmunohistoquímica IHQ ki67 para establecer su valor pronóstico**

Olga Lizeth Gómez Contreras  
*Universidad de La Salle, Bogotá*

Follow this and additional works at: [https://ciencia.lasalle.edu.co/medicina\\_veterinaria](https://ciencia.lasalle.edu.co/medicina_veterinaria)



Part of the [Veterinary Medicine Commons](#)

---

### **Citación recomendada**

Gómez Contreras, O. L. (2015). Estudio de Mastocitoma Cutáneo Canino y uso de la prueba de inmunohistoquímica IHQ ki67 para establecer su valor pronóstico. Retrieved from [https://ciencia.lasalle.edu.co/medicina\\_veterinaria/37](https://ciencia.lasalle.edu.co/medicina_veterinaria/37)

This Trabajo de grado - Pregrado is brought to you for free and open access by the Facultad de Ciencias Agropecuarias at Ciencia Unisalle. It has been accepted for inclusion in Medicina Veterinaria by an authorized administrator of Ciencia Unisalle. For more information, please contact [ciencia@lasalle.edu.co](mailto:ciencia@lasalle.edu.co).

Universidad de La Salle  
Facultad de Ciencias Agropecuarias  
Programa de Medicina Veterinaria



Estudio de Mastocitoma Cutáneo Canino y uso de la prueba de inmunohistoquímica (IHQ)  
ki67 para establecer su valor pronóstico

Preparado por:

Olga Lizeth Gómez Contreras

Bogotá D.C, Colombia

2015

Universidad de La Salle  
Facultad de Ciencias Agropecuarias  
Programa de Medicina Veterinaria



Estudio de Mastocitoma Cutáneo Canino y uso de la prueba de inmunohistoquímica (IHQ)  
ki67 para establecer su valor pronóstico

Preparado por:

Olga Lizeth Gómez Contreras

1409211

Director:

Ricardo J. Piñeros D. M.V. Esp. MSc

Bogotá D.C, Colombia

2015

## DIRECTIVOS

RECTOR	Hno. Carlos Gabriel Gómez Restrepo
VICERRECTOR ACADÉMICO	Hno. Fabio Humberto Coronado Padilla
VICERRECTOR DE CRECIMIENTO Y DESARROLLO HUMANO	Hno. Frank Leonardo Ramos Baquero
VICERRECTOR ADMINISTRATIVO	Dr. Eduardo Ángel Reyes
VICERRECTOR DE INVESTIGACIÓN Y TRANSFERENCIA	Hno. Manuel Cancelado Jiménez
DECANO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS	Dra. Claudia Aixa Mutis Barreto
DIRECTOR PROGRAMA MEDICINA VETERINARIA	Dr. Fernando Nassar

## APROBACIÓN

**Director**

---

**Ricardo Javier Piñeros Duque**

**Jurado**

---

**Frank Harry Suárez Sánchez**

**Jurado**

---

**Jorge Humberto Ossa**

## **COMPROMISO**

Los trabajos de grado no deben contener ideas que sean contrarias a la doctrina católica en asuntos de dogma y moral.

Ni la Universidad, ni el director, ni el jurado calificador son responsables de las ideas expuestas por el graduando.

## AGRADECIMIENTOS

Hoy quiero agradecer primero a Dios por ser mi guía y darme la oportunidad de culminar una etapa más en mi vida, una de las más importantes, trascendentales y emotivas para cualquier ser humano.

También agradezco a cada uno de los miembros de mi núcleo familiar por creer en mí a lo largo de este camino, acompañarme en cada una de mis victorias pero de igual manera en cada una de las dificultades. Principalmente agradezco a mi mamá quien dedicó tantos años de su vida a entregarme lo más sincero y mejor de sí; por aguantar mis rabias, pataletas, tristezas y todo aquello que en algún momento hizo verme el lado oscuro del camino. Gracias por mostrarme lo hermoso de la victoria después de tantos sacrificios, simplemente gracias por ser mi amada mamá. A mi padre por cada uno de sus esfuerzos, por cada una de sus palabras, por cada una de sus preocupaciones, por cada uno de los días de su vida a mi lado.

A mi tutor Ricardo Piñeros por guiar cada uno de mis pasos profesionales; ser colega, docente, amigo y mostrarme cuán hermosa es esta profesión, además del orgullo que se siente llevar no sólo el título y sino también el corazón de ser un médico veterinario.

A CORPAVET por depositar su confianza en mí y guiarme en el proceso de la elaboración de mi trabajo de grado.

A mis jurados por aceptar ser parte de este proceso y retroalimentarme con cada uno de sus sabios consejos.

A la Universidad de La Salle por dejarme llevar en alto el nombre de la institución en cada reto nuevo por venir.

Finalmente dedico este nuevo triunfo a cada uno de ustedes pero con más mérito a ti hijo, a ti Gabriel González Gómez, mi razón de ser. Esto es por ti y para ti.

## **Tabla de contenido**

- 1. Resumen**
- 2. Abstract**
- 3. Introducción**
- 4. Objetivos**
  - 4.1 Objetivo General**
  - 4.2 Objetivos específicos**
- 5. Marco teórico**
  - 5.1 Características histológicas de las neoplasias de células redondas**
    - 5.1.1 Mastocitomas**
    - 5.1.2 Histiocitomas**
    - 5.1.3 Plasmocitomas**
    - 5.1.4 Linfomas**
    - 5.1.5 Tumor Venéreo transmisible (TVT)**
  - 5.2 Mastocitoma Cutáneo Canino**
    - 5.2.1 Graduación histológica por medio de la clasificación de Patnaik et al., (1984)**
      - 5.2.1.1 Grado I**
      - 5.2.1.2 Grado II**
      - 5.2.1.3 Grado III**
    - 5.2.2 Graduación histológica por medio de la clasificación de Kiupel et al., (2011)**
  - 5.3 Utilización de herramientas diagnósticas en tumores de células de Mast**
    - 5.3.1 Histoquímica**



### **5.3.2 Inmunohistoquímica**

### **5.4 *Ki67* como inmunomarcador para valor pronóstico**

## **6. Metodología**

### **6.1 Recolección de información**

### **6.2 Reclasificación del grado histológico**

### **6.3 Base de datos**

### **6.4 Análisis estadístico**

### **6.5 Elección de casos para aplicación inmunohistoquímica con *Ki67***

### **6.6 Aplicación de IHQ con *Ki67***

#### **6.6.1 Lectura y categorización para establecer el valor pronóstico**

## **7. Resultados**

### **7.1 Análisis de resultados**

**7.1.1 Análisis de frecuencia - Distribución de los mastocitomas según la clasificación de Patnaik et al., (1984) y Kiupel et al., (2011).**

**7.1.2 Tabulación de bordes quirúrgicos**

**7.1.3 Tabulación del grado de colagenolisis**

**7.1.4 Tabulación cruzada entre sexo y localización**

**7.1.5 Tabulación cruzada entre sexo y raza**

**7.1.6 Tabulación cruzada entre localización y raza**

**7.1.7 Tabulación cruzada entre raza y edad**

**7.1.8 Tabulación cruzada entre localización y edad**

**7.1.9** Evaluación de mastocitomas de Alto Grado (Kiupel et al., 2011) por inmunohistoquímica (IHQ) con Ki67 para establecer su valor pronóstico.

**8.** Discusión

**9.** Conclusiones

**10.** Recomendaciones

**11.** Referencias

## Contenido de figuras

1. Índice mitótico como predictor de tiempo de supervivencia en caninos con mastocitoma grado II.
2. Consistencia en la clasificación de los mastocitomas por el sistema de Kiupel (2011) Vs. El sistema de Patnaik et al., (1984).
3. Mastocitoma Cutáneo Canino, 400X, H-E. Presentación de figuras mitóticas.
4. Mastocitoma Cutáneo Canino, 400X, IHQ - Ki67. Presentación de células multinucleadas.
5. Mastocitoma Cutáneo Canino, 400X, H-E. Presentación núcleos aberrantes
6. Mastocitoma Cutáneo Canino, 100X, Giemsa. Gránulos metacromáticos teñidos de color púrpura.
7. Mastocitoma Cutáneo Canino, 100X, IHQ- Ki67. Inmunomarcación nuclear positiva a células de Mast.
8. Análisis de frecuencia - Distribución de los mastocitomas según la clasificación de Patnaik *et al.*, (1984) y Kiupel *et al.*, (2011).
9. Tabulación de bordes quirúrgicos
10. Tabulación del grado de colagenolisis
11. Tabulación cruzada entre sexo y localización
12. Tabulación cruzada entre sexo y raza
13. Tabulación cruzada entre localización y raza
14. Tabulación cruzada entre raza y edad
15. Tabulación cruzada entre localización y edad
16. Evaluación de mastocitomas de Alto Grado (Kiupel et al., 2011) por inmunohistoquímica (IHQ) con Ki67 para establecer su valor pronóstico.

- 17.** Predisposición conjunta en 3 de los 4 componentes en dos formas distintas (raza, sexo, edad y localización).
- 18.** Asociación de parámetros para la presentación de Mastocitoma Cutáneo Canino (raza, sexo, edad y localización).

## 1. RESUMEN

**Introducción:** mastocitoma cutáneo es la neoplasia que se presenta con mayor frecuencia en caninos, de 7% a 21%. Es necesario hacer la correcta diferenciación y diagnóstico de las neoplasias de células redondas como mastocitomas, histiocitomas, linfosarcomas, tumor venéreo transmisible (TVT) y plasmocitomas con pruebas diagnósticas como inmunohistoquímica (IHQ) e histoquímica. **Objetivo:** mostrar la importancia de establecer el valor pronóstico en los mastocitomas a través de la utilización de histoquímica e inmunohistoquímica. **Materiales y métodos:** se tomaron 112 casos diagnosticados como mastocitomas cutáneos en CORPAVET remitidos entre los años 2010 – 2014 para categorizarlos y realizar las pruebas diagnósticas como IHQ con Ki67 para determinar valor pronóstico. **Resultados:** por histopatología se encontró que 77% corresponden a mastocitomas de bajo grado y 33% a alto grado según la clasificación de Kiupel, et al., 2011. Haciendo un análisis de variables como son sexo, raza, edad y localización se encontró que la mayor presentación de este tipo de neoplasias en cuanto al sexo se presenta más en machos que en hembras, localizados principalmente en miembros tanto anteriores como posteriores y rostro, las razas de mayor presentación fueron Labrador Retriever y Bóxer, la edad de presentación fue principalmente de 6 a 11 años. Se encontró relación entre raza, sexo y localización pero no entre edad y localización. De los casos clasificados como mastocitoma de alto grado se tomaron 14 para realizar IHQ con Ki67 para establecer valor pronóstico según lo reportado por Vascellari, et al., 2013; donde el 16,6% presentaban un pronóstico favorable y 83,3% un pronóstico desfavorable. **Conclusión:** la utilización de la histopatología con coloraciones especiales y la aplicación de IHQ con Ki67 permiten establecer el valor pronóstico y tratamiento en mastocitoma cutáneo.

Palabras claves: inmunohistoquímica, mastocitoma, Ki6, valor diagnóstico, valor pronóstico.

## 2. ABSTRACT

Introduction: cutaneous mast cell tumor is the neoplasm occurs most often in dogs, from 7% to 21%. You need to make the correct diagnosis and differentiation of round cell neoplasms as mastocytomas, histiocytoma, lymphosarcoma, transmissible venereal tumor (TVT) and plasmacytomas with diagnostic tests such as immunohistochemistry (IHC) and histochemistry. Objective: To show the importance of establishing the prognostic value in mastocytomas through the use of histochemistry and immunohistochemistry. Methods: - 2014 to categorize and perform diagnostic tests with Ki67 immunohistochemistry to determine prognostic value 112 cases diagnosed as cutaneous mast cell tumors in CORPAVET submitted between 2010 were taken. Results: By histopathology was found that 77% are low-grade mast cell tumors and 33% to high grade as rated by Kiupel, et al, 2011. Making an analysis of variables such as sex, race, age and location were found to the largest presentation of this type of tumors in sex is more common in males than in females, located mainly in both anterior and posterior face and limbs, larger breeds were introduced Labrador Retriever and Boxer, the age of presentation was mainly 6-11 years. Relationship between race, gender and location but not between age and location was found. Cases classified as high grade mastocytoma took 14 for IHC with Ki67 to establish prognostic value as reported by Vascellari, et al, 2013; where 16.6% had a favorable prognosis and 83.3% an unfavorable prognosis. Conclusion: the use of histopathology with special stains and implementation of IHC with Ki67 possible to establish the prognostic value and treatment in cutaneous mast cell.

Key words: immunohistochemistry, mastocytoma, Ki67, diagnostic value, prognostic value

### 3. INTRODUCCIÓN

Dentro de los procesos neoplásicos de células redondas en caninos se encuentran tumores de células de Mast o mastocitomas, histiocitomas, plasmocitomas, linfomas y tumor venéreo transmisible (TVT), siendo el mastocitoma el de mayor presentación ubicado en el subcutis (dermis). Estos tumores se caracterizan por que las células que los constituyen son redondas u ovals, y en algunos casos fusiformes, donde los patrones son muy similares en algunos de los casos por la evaluación citológica mediante punción con aguja fina (PAF), siendo necesario en la mayoría de los casos la evaluación histopatológica utilizando la coloración convencional de Hematoxilina – Eosina (H-E), además coloraciones especiales como Giemsa, Azul de Toluidina, Acido Periodico de Schiff (PAS) y la utilización de inmunomarcadores específicos, todo lo anterior para establecer la diferenciación celular relacionada con morfología celular, índice mitótico, el tipo de célula que prolifera dentro de los diferentes tipos de células redondas que se pueden presentar y el grado de expresión de proteínas nucleares relacionadas con su proliferación, siendo todo lo anterior necesario en algunos casos para establecer el diagnóstico y valor pronóstico del proceso neoplásico, encaminado al tratamiento y control oportuno del proceso. En algunos casos los tumores derivados de los melanocitos, las células pueden ser redondas pero este tipo de tumores no se incluyen dentro de los de células redondas, por tener un origen embrionario diferente. El diagnóstico diferencial de los tumores de células redondas, mediante un examen histológico sin caracterización citológica concomitantes puede, en algunos casos, depender más de la edad de los animales, tasa de crecimiento, la ubicación del tumor, el número de tumores y la implicación de los ganglios linfáticos (Duncan et al, 1979).

Para el análisis e interpretación de los datos que se hallen en este estudio, se trabajará con información previamente examinada de la Corporación de Patología Veterinaria CORPAVET, de allí se extraerán los casos diagnosticados como Mastocitoma Cutáneo Canino por el

método de histopatología a los cuales se les realizará como prueba confirmatoria inmunohistoquímica (IHQ), éste con el fin de correlacionar la clínica con la patología y determinar el valor pronóstico de estos individuos y la terapéutica más apropiada.



## **4. Objetivos**

### **4.1 Objetivo general**

Realizar un estudio retrospectivo mediante la aplicación de inmunohistoquímica Ki67 para graduar y categorizar los Mastocitomas Cutáneos Caninos para establecer el valor pronóstico de los pacientes.

### **4.2 Objetivos específicos**

- I. Recategorizar los mastocitomas diagnosticados por la clasificación de Patnaik a la actual de Kiupel y colaboradores; 2011. Mediante el análisis de casos de 2010 a 2014 de CORPAVET (Corporación Patología Veterinaria).
- II. Justificar la aplicación de Ki67 en mastocitomas de alto grado y poder establecer su valor pronóstico.

## 5. MARCO TEÓRICO

### 5.1 Características histológicas de las neoplasias de células redondas

Los tumores de células redondas se caracterizan por ser células discretas de formas redondas a ovales y en algunos casos fusiformes, su arquitectura histológica es similar; dentro de estas neoplasias se encuentra los mastocitomas, histiocitomas, plasmocitomas, linfomas y Tumor Venéreo Transmisible (TVT). En los casos que las neoplasias son poco diferenciadas es necesario realizar histoquímica con tinciones especiales, sin embargo es de gran utilidad realizar la citología por Punción con Aguja Fina (PAF) ya que permite encaminar mejor el diagnóstico en ayuda de la histopatología. (Duncan & Prasse, 1979) (Withrow et al., 2001)

#### 5.1.1 Mastocitomas

En los tumores bien diferenciados las células tienen un diámetro de 10 a 20  $\mu\text{m}$ , cuando los tumores son anaplásicos pueden ser de 12 hasta 35  $\mu\text{m}$ . El núcleo puede ser redondo o sutilmente ovalado que se tiñe débilmente, contiene agregados de cromatina y en los casos de anaplasia se observan células multinucleadas o mitosis. El nucléolo no es visible (Hosseini et al., 2014).

En el citoplasma se encuentra gránulos metacromáticos teñidos de azul o púrpura; en los tumores anaplásicos se observan pocos gránulos y en ocasiones están ausentes. El conteo

de eosinófilos, neutrófilos y linfocitos pueden variar o estar ausentes. (Duncan & Prasse, 1979).

### **5.1.2 Histiocitomas**

En tumores bien diferenciados las células pueden ser redondas u ovals, el diámetro puede ser de 12 a 26  $\mu\text{m}$ . Los núcleos son redondos a ovals, cromatina finamente granular, presencia de células multinucleadas ocasionales sin presencia de figuras mitóticas (Yamate et al., 2007). El nucléolo puede ser evidente ocasionalmente. El núcleo debe guarda una relación de 1:1 con el citoplasma. El citoplasma es azul pálido con márgenes distinguibles, algunas membranas celulares pueden tener una apariencia crenada y no es usual encontrar gránulos intracitoplasmáticos. No hay evidencia de actividad fagocítica, las células inflamatorias no son evidentes en tumores no ulcerados y en tumores ulcerados los neutrófilos son evidentes (Duncan & Prasse, 1979).

### **5.1.3 Plasmocitomas**

Los criterios morfológicos para la clasificación de este tipo de tumores incluyen la presencia de células neoplásicas individualizadas o densamente agrupadas en cordones y nidos dentro de la dermis, siendo estas células redondas u ovals, con núcleo predominantemente redondo y desplazado a la periferia, cromatina grumosa, pequeño nucléolo, cantidad variable de material anofílico con deposición perinuclear (cuerpo de Russell) y de baja a moderada actividad mitótica (Baer et al., 1989).

#### **5.1.4 Linfomas**

Aunque las características corresponden a células linfoides, éstas pueden cambiar morfológicamente de tumor a tumor. En células neoplásicas pequeñas el diámetro varía de 8 a 15  $\mu\text{m}$  de diámetro y en células largas de 10 a 24  $\mu\text{m}$  de diámetro. El núcleo usualmente es redondo, el nucléolo es visible y es frecuente observar figuras mitóticas. El citoplasma se tiñe azul y es granular, presentando alguna de estas dos características: una zona perinuclear clara o un aparato de Golgi prominente. En células pequeñas la relación núcleo: citoplasma fue mayor a 1:1 mientras que en células largas la relación estuvo más cercana a 1:1. Es común encontrar células lisadas, células multinucleadas y numerosas figuras mitóticas. En la mayoría de casos de Linfoma Cutáneo el ganglio regional se encuentra afectado (Duncan & Prasse, 1979. Ponce et al., 2010).

#### **5.1.5 Tumor Venéreo Transmisible (TVT)**

Son células con un diámetro de 14 a 30  $\mu\text{m}$  redondeadas, el núcleo es oval, la cromatina está organizada en forma de cordones; nucléolo largo y azul. El recuento de figuras mitóticas es numeroso y la relación núcleo: citoplasma es ligeramente menor a 1:1. El citoplasma puede ser azul claro o incoloro, finamente granular y se observan claramente vacuolas. La membrana plasmática es distinguible y las células plasmáticas, linfocitos y macrófagos también se encuentran (Duncan & Prasse, 1979).

## 5.2 Mastocitoma Cutáneo Canino

Este tipo de tumor es la representación neoplásica de los mastocitos, constituyen un porcentaje de 7% a 21% de las neoplasias de piel en caninos (Romansik et al, 2007). Los mastocitos tienen su origen en la médula ósea, migran a numerosos tejidos principalmente aquellos que tienen un mayor contacto con agentes externos tal como el sistema respiratorio, sistema digestivo y piel (Ginn et al, 2000), están contenidos por un número de sustancias activas dentro de sus gránulos secretores tales como serotonina, histamina, dopamina; algunas citoquinas preformadas como Factor de Necrosis Tumoral (TNF) (Rönnberg et al, 2012). La serotonina es una amina biogénica preformada almacenada en los gránulos de mastocitos, sin embargo también está presente en otros tejidos, estas sustancias activas participan dentro de la respuesta de hipersensibilidad aguda tipo I en reacciones alérgicas agudas, donde la activación de los mastocitos se realiza por unión de la inmunoglobulina E (IgE) al receptor de membrana en estas células (Thompson et al, 2011). En los caninos, hay tres subtipos de mastocitos contenidos de triptasa y quimasa, en primer estancia se encuentran los que contienen solo triptasa, en segundo lugar los mastocitos que contienen únicamente quimasa y en tercer lugar los que contienen ambas sustancias, siendo el último el subtipo más común que se encuentra en piel (Fernández et al, 2005).

Cuando hay manipulación directa de estas neoplasias se estimula la degranulación con la consecuente liberación de sustancias vaso activas desde estas células, llevando a la presentación de zonas con eritema, inflamación y formación de ronchas en los tejidos cercanos, lo cual se conoce como signo o fenómeno de Darier (Thompson et al, 2011). Esta degranulación y liberación de sustancias vaso activas dentro del sistema circulatorio tiene varios efectos a nivel sistémico, al liberarse la histamina esta actuará sobre las células parietales del estómago por medio de los receptores H2, estimulando e incrementando la

secreción de ácido clorhídrico (HCl), lo que va a ser causante de la irritación y ulceración de la mucosa del tracto gastrointestinal (TGI), por ende el paciente presentará vómitos, hematemesis, diarrea y melena (Rios, 2008).

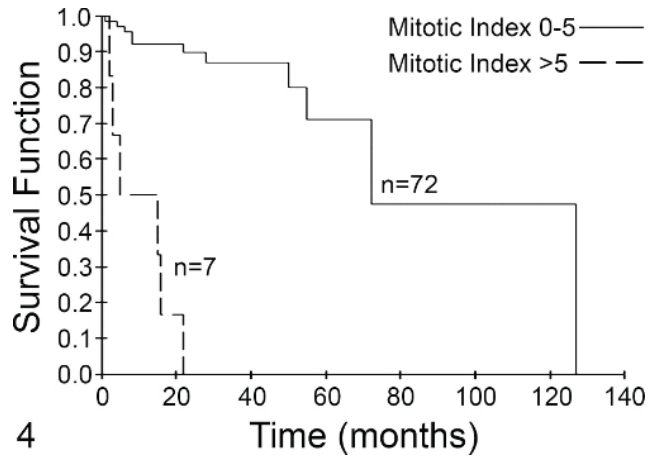
Algunas características que predisponen a la presentación de Mastocitoma Cutáneo tienen que ver con el rango de edad que en promedio es de 8.2 a 10.5 años; además de algunas razas, principalmente Bull Terrier, Golden Retriever, Bóxer y Boston Terrier las cuales se han asociado a la posible influencia de un factor genético de la raza que puede caracterizar la susceptibilidad y la agresividad del tumor (Zemke et al, 2002)., el sexo no se reconoce como un factor predisponente a la presentación de esta neoplasia. (Simoes et al, 1994). Las áreas de mayor predisposición a la presentación de mastocitomas cutáneos según estudios realizados por Simoes (1994) con una población de 114 caninos fueron principalmente tórax, miembros posteriores y abdomen bastante similar a los realizados por Thompson (2011) donde las localizaciones más frecuentes son las anteriormente nombradas incluyendo cabeza y cuello.

La presentación de mastocitoma debe llevar consigo una evaluación y clasificación clínica para correlacionarla con la clasificación histopatológica, ésta se determina en 5 estadios que van de 0 a IV; el estadio 0 comprende los tumores que han sido extirpados de manera incompleta, el estadio I se refiere a un único tumor sin compromiso de ganglios linfáticos mientras que el estadio II si presenta compromiso de ganglios linfáticos; los estadios III y IV hacen referencia a múltiples tumores y a tumores recurrentes o metastásicos respectivamente (Zemke et al, 2002. Vidales et al., 2006. Rios, 2008 citado en London, 2003). En cuanto la clasificación histopatológica antiguamente se usaba la clasificación de Patnaik (1984) para el diagnóstico de mastocitoma cutáneo canino y variaba de grado I a grado III con características como invasión tumoral, reacción del estroma y presencia de

gránulos citoplasmáticos de las células tumorales; sin embargo este no establece un diagnóstico tan certero; por ello, ahora se hace necesario usar la clasificación del sistema de Kiupel (2011) que hace referencia a la presentación de alto grado o bajo grado, dado por características como número de figuras mitóticas, anormalidades morfológicas en los núcleos, células multinucleadas y cariomegalia de más del 10%, este nuevo sistema genera una solidez del diagnóstico de 96.8% (Takeuchi et al, 2013).

Romansik (2007) demostró en un estudio que caninos que presentaban índices mitóticos  $>5$  en una categorización de grado II (clasificación según Patnaik, 1984) se acercaron a un tiempo de supervivencia de 5 meses, mientras que caninos con un índice mitótico  $<5$  podrían acercarse hasta los 70 meses de vida (Fig.1). El tiempo de supervivencia que se ha establecido desde la clasificación Patnaik, manifestó que los caninos con presentación de grado I en un 98% de los casos sobrevivieron por más de los 1500 días, mientras que en grado II y grado III se observa que sólo un 47% y 6% respectivamente, alcanzan a vivir por encima de los 1500 días (Kiupel et al, 2011). Sin embargo, el tiempo de supervivencia aún no ha sido estandarizado y por ende no se puede precisar cuál será el promedio de vida de estos según el grado de presentación del tumor.

Figura 1. Tomado de: Romansik et al., (2007). Índice mitótico como predictor de tiempo de supervivencia en caninos con mastocitoma grado II.



La escisión quirúrgica aportará al valor pronóstico del paciente en caso de ser benigno a diferencia de uno maligno que compromete la vida del individuo (Kiupel et al, 2011). La edad promedio de los caninos que presentan recidivas es de 7,5 y 8,3 años incluyendo los casos recurrentes por extirpación del tumor y aquellos que se han presentado por primera vez (Thompson et al, 2011). El mastocitoma es un tumor que puede desencadenar un proceso fatal en los caninos exponiendo al animal a cuadros severos de hemorragias o dehiscencia de puntos cuando un paciente es tratado quirúrgicamente que posteriormente conllevará a una hipotensión severa y finalmente la muerte, adicionalmente la degranulación de estas células generará síndromes paraneoplásicos como por ejemplo en la liberación de histamina que generará daños a nivel de la mucosa gastrointestinal y en algunos casos más raros una liberación excesiva de esta podrá generar una reacción anafiláctica aguda que podrá llevar a la muerte del animal (Blackwood et al., 2012).



### **5.2.1 Graduación histológica por medio de la clasificación de Patnaik et al., (1984)**

En este estudio se establecieron tres categorías para la clasificación de los mastocitomas a partir de 83 casos con diagnóstico de Mastocitoma Cutáneo Canino y que cumpliera con los siguientes criterios: tumores que hubiesen sido retirados quirúrgicamente debían tener bordes amplios, que los pacientes clínicamente no tuviesen mastocitoma después de la intervención quirúrgica y que no hubiese recibido un tratamiento diferente a éste último nombrado.

Los tejidos fueron fijados en formalina y teñidos con la tinción de rutina Hematoxilina-Eosina (H&E). Todos los casos fueron leídos por Patnaik sin tener alguna información de los caninos. La graduación se realizó por medio de las siguientes características histomorfológicas: grado de compromiso, celularidad y morfología celular, índice mitótico y reacción estromal.

#### **5.2.1.1 Grado I**

El 36% (30/83) de los casos fueron categorizados como grado I donde se estableció que la neoplasia se confinaba a la dermis y los espacios interfoliculares. Los mastocitos son bien diferenciados y se disponen en filas que las separan maduras fibras de colágeno de la dermis, son redondas con un citoplasma amplio contenido de gránulos y límites citoplasmáticos distinguibles. El núcleo con cromatina densa; ausencia de figuras mitóticas, edema y necrosis en mínimo grado (Patnaik et al., 1984).

### **5.2.1.2 Grado II**

El 43% (36/83) de los casos fueron categorizados como grado II. Para esta categoría se presenta moderada a alta celularidad, infiltrando y reemplazando el tejido de la dermis y el tejido subcutáneo. Se presenta moderado pleomorfismo celular, se organizan en grupos dentro de un delgado estroma fibrovascular observándose en algunos casos áreas de hialinización. Las células neoplásicas se caracterizan por presentar morfología redonda a ovoide, estando presente de forma dispersas células gigantes y fusiformes. La mayoría de las células presentan citoplasma distinguible con gránulos intracitoplasmáticos, sin embargo el citoplasma en algunas pueden ser indistinguible en sus límites y los gránulos pueden ser grandes e hipercromáticos. Núcleo redondo e indentado con cromatina dispersa y uno a dos nucléolos. La presentación de mitosis es rara, pero se pueden encontrar de 0 a 2 por campo de alto poder. Se pueden encontrar a su vez áreas difusas de edema y necrosis dentro del proceso neoplásico (Patnaik et al., 1984).

### **5.2.1.3 Grado III**

En este grado se presenta alto pleomorfismo y densidad celular, reemplazando e infiltrando las células neoplásicas en tejido subcutáneo y profundo. Las células son pleomórficas, de tamaño mediano, redondo, ovoide y fusiforme, organizadas en conglomerados densos. El citoplasma poco definido, con gránulos finos intracitoplasmáticos (en algunos casos no son obvios). Núcleo redondo, indentado, vesiculado y uno a dos nucléolos prominentes, células gigantes y multinucleadas. La presentación de mitosis es común, en un rango de 3 a 6 figuras por campo de alto poder. La presentación de edema, hemorragia y necrosis es común para este grado. Para este tipo de tumor el pronóstico es negativo (Patnaik et al., 1984).

En otros estudios realizados por Strefezzi *et al.*, (2003), se encontró que de 14 mastocitomas analizados, la distribución por grados fue la siguiente: 35.7% (5/14) grado I, 42.9% (6/14) de grado II, y 21.4% (3/14) de grado III, siendo estos resultados similares a los obtenidos por Patnaik *et al.* (1984). Para este mismo autor en el trabajo realizado, analizando 14 animales, encontró mayor incidencia en la raza Bóxer con un rango de edad de 8.5 años.

### **5.2.2 Graduación histológica por medio de la clasificación de Kiupel *et al.*, (2011)**

Debido a la divergencia que se puede encontrar en la clasificación de Patnaik *et al.*, (1984), con los mastocitomas relacionado con su clasificación histológica y su valor pronóstico en la sobrevivencia del animal, Kiupel *et al.* (2011), propuso una nueva clasificación en dos grados únicamente. Para lo anterior se tomó 95 mastocitomas cutáneos de 95 caninos, siendo estos tumores evaluados por 28 patólogos veterinarios de 16 institutos. La concordancia entre patólogos fue del 75% en el diagnóstico del grado III de mastocitoma y menos del 64% para el diagnóstico del grado I y II, lo que quería decir que un mastocitoma grado II podía comportarse bien como un grado I o un grado III. Por ello Kiupel *et al.*, (2011) proponen dos niveles de clasificación histológica para mejorar la concordancia entre patólogos y ofrecer una mejor significancia al pronóstico (Fig. 2). El diagnóstico de mastocitoma de alto grado (II) se basa en la presentación de cualquiera de los siguientes criterios: al menos 7 figuras mitóticas en 10 campos de alto poder (Fig. 3); al menos 3 o más células multinucleadas en 10 campos de alto poder (Fig. 4); al menos 3 núcleos aberrantes en 10 campos de alto poder (Fig. 5); cariomegalia (es decir que el diámetro nuclear de al menos el 10% de las células neoplásicas varían al menos dos veces). Todo lo anterior se debe hacer en campos con la mayor actividad mitótica o con el mayor alto grado de anisocariosis para evaluar los diferentes parámetros.

Figura 2. Tomado de: Kiupel et al., (2011). Clasificación de 95 casos de mastocitoma cutáneo canino por el sistema de Patnaik et al., (1984) (Izq.) y la más actual de Kiupel et al., (2011) (Der.). La figura muestra una mayor consistencia por el método de clasificación de Kiupel (2011) permitiendo establecer un valor pronóstico más significativo.

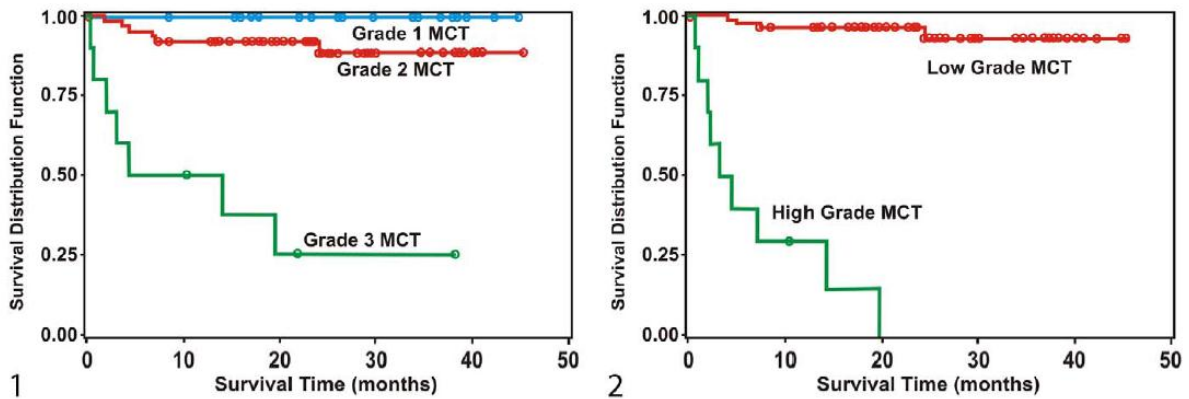


Figura 3. Piel, canino. Mastocitoma cutáneo 400X. Presentación de figuras mitóticas. Tinción de rutina H-E. CORPAVET (Ricardo Piñeros).

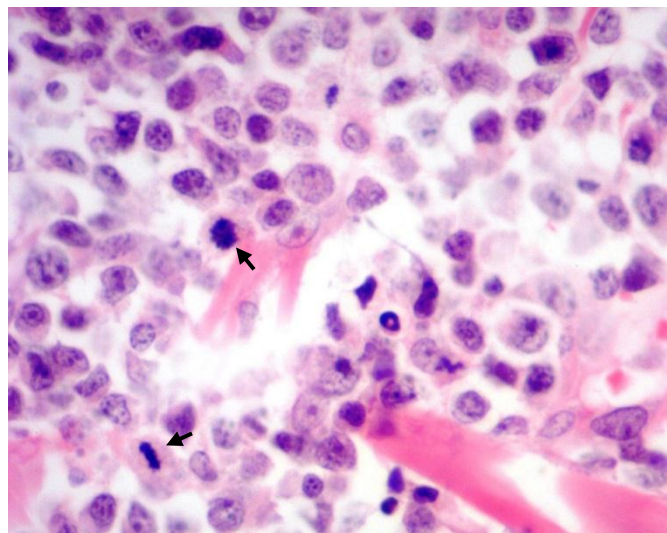


Figura 4. Piel, canino. Mastocitoma cutáneo 400X. Presentación de células multinucleadas. Inmunohistoquímica con *Ki67*. CORPAVET (Ricardo Piñeros).

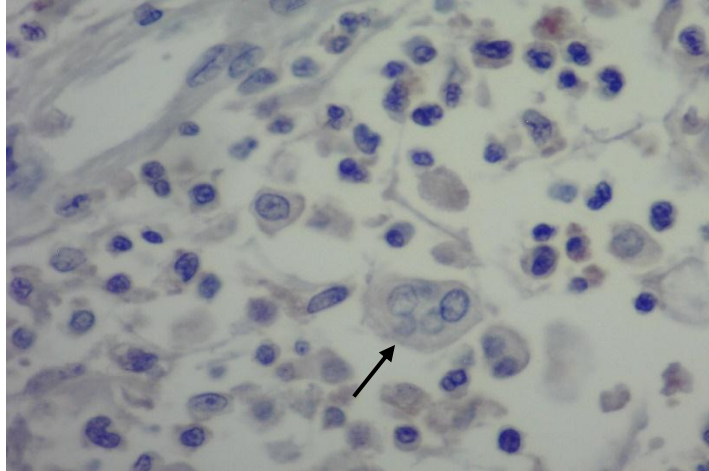
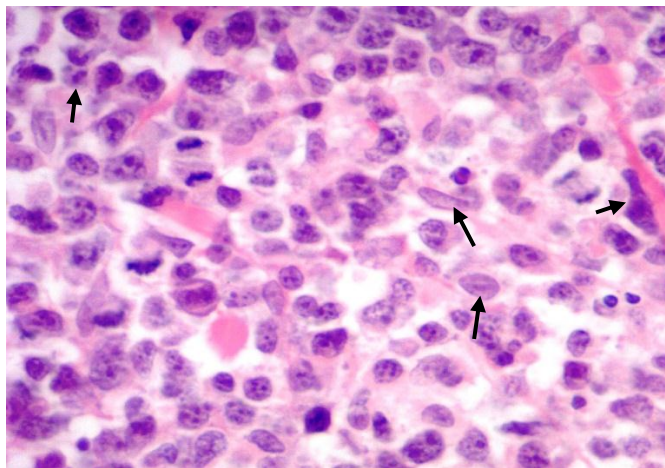


Figura 5. Piel, canino. Mastocitoma cutáneo 400X. Presentación de núcleos aberrantes en formas poliédricas, alargadas. Tinción de rutina H-E. CORPAVET (Ricardo Piñeros).



De acuerdo con este nuevo sistema de clasificación, los mastocitomas de alto grado se asocian significativamente con el tiempo más corto en la presentación de metástasis o desarrollo de tumores nuevos y tiempo corto de supervivencia. El periodo medio de supervivencia fue de 4 meses para los mastocitomas de alto grado (III), y más de 2 años para los mastocitomas de bajo grado (I). El riesgo de muerte por tumores de alto grado es 53.8 veces mayor que los tumores de bajo grado (IC del 95%, 49.83-57.77). En este nuevo sistema de clasificación tiene una coherencia del 96% y una media ponderada de acuerdo entre patólogos del 99.3% Kiupel et al., (2011). En la clasificación de Patnaik (1984) y de acuerdo a los resultados del estudio de., el grado II representó el 53% de los tumores clasificados encontrándose que es poca la información que proporciona esta clasificación en relación al pronóstico Kiupel et al., (2011). Según el trabajo original de Patnaik et al., (1984) el 44% de los pacientes con grado II permanecieron vivos al menos 1500 días. Por lo tanto, sobre la base de estos porcentajes, un animal con un grado histológico II de mastocitoma, tiene una oportunidad del 56% de morir dentro de los 5 años de diagnosticado el tumor, y una probabilidad del 44% de sobrevivir pasados los 5 años. El diagnóstico de mastocitomas grado II añade poco valor pronóstico para los clínicos, porque hay una probabilidad cercana a 50/50 de supervivencia por 5 años en estos pacientes Kiupel et al., (2011).

### **5.3 Utilización de herramientas diagnósticas en tumores de células de Mast**

Los mastocitomas por su características histomorfológicas requieren un diagnóstico cuidadoso por lo que se hace importante aplicar pruebas diagnósticas sobre este tipo de neoplasia para realizar su caracterización, establecer su grado de malignidad y hasta su valor pronóstico por medio de la utilización de la histoquímica y la inmunohistoquímica.

### 5.3.1 Histoquímica

La histoquímica tiene como fin manifestar una molécula presente en una sección histológica y estudiar su distribución tisular "in situ" cuando estas son difícilmente visibles con colorantes generales. Las técnicas pueden ser de dos tipos, reacciones químicas e histoquímica enzimática (Universidad de Vigo- España, 2015).

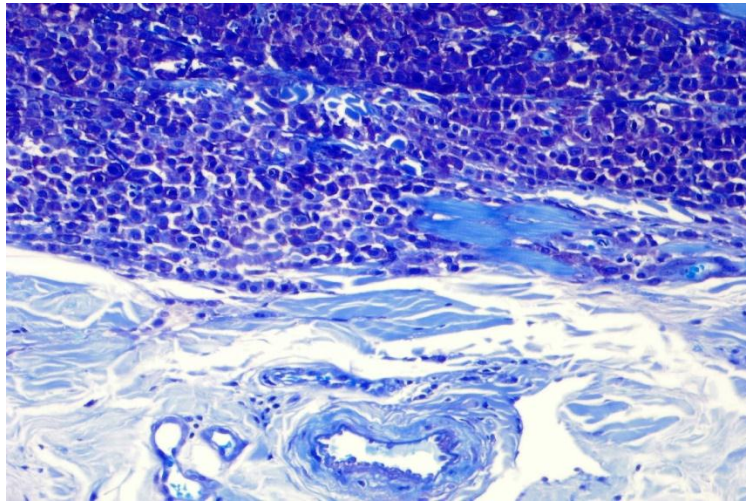
Las reacciones químicas consisten en la modificación química de moléculas del tejido para posteriormente realizar la tinción. Existen técnicas histoquímicas para detectar glúcidos, proteínas y nucleótidos; entre estas la técnica más empleada es la reacción de PAS (Ácido Periódico de Schiff) (Universidad de Vigo- España, 2015).

La histoquímica enzimática se basa en la capacidad que tienen algunas enzimas del tejido de mantener su funcionalidad posterior al proceso de la fijación. Estas enzimas y las células que las poseen se evidencian mediante una reacción enzimática que convierte a unos sustratos solubles e incoloros en productos insolubles y coloreados. Estos sustratos son específicos para el enzima y los productos se depositan en el lugar preciso donde se localiza la enzima. Las enzimas que se pueden detectar son variadas como las peroxidasas, fosfatasas, deshidrogenasas, acetilcolinesterasa, entre otras (Universidad de Vigo- España, 2015).

Para el caso de mastocitoma el punto Diana o de interés son los gránulos intracitoplasmáticos por los que está contenido, sin embargo la histoquímica en este tipo de neoplasias se hace aún más relevante en aquellos mastocitomas que son pobremente diferenciados y por ser histiocitoma uno de sus principales diferenciales, debido a esto se hace necesario precisar el diagnóstico por medio de la observación de los gránulos

matacromáticos por coloraciones especiales como Giemsa (Fig. 6), Azul de Toluidina o Ácido Periódico de Schiff (Virgil et al., 2014).

Figura 6. Piel, canino. Mastocitoma cutáneo 100X. Gránulos metacromáticos teñidos de color púrpura. Giemsa. CORPAVET (Ricardo Piñeros).



### 5.3.2 Inmunohistoquímica

Es una técnica que combina la inmunología, la histología y bioquímica para permitir la identificación de moléculas en los tejidos mediante la aplicación de anticuerpos, posee una gran especificidad y alta afinidad para reconocer moléculas y unirse a ellas, esta interacción es visible usando un marcador como un colorante fluorescente, enzima o elemento radiactivo. (Universidad de Vigo- España, 2015).

Los anticuerpos que se usan en esta técnica son de tipo G (Ig G), producidas por unas células del sistema inmunitario denominados linfocitos B durante la respuesta inmune.



Cuando se inyecta una molécula en el individuo experimental se generan anticuerpos de forma masiva, ya que la reconoce como extraña. Estos anticuerpos pasan al suero sanguíneo del animal inmunizado al que se le extraerá y a partir del cual se purificará (anticuerpos policlonales). Las moléculas complejas como las proteínas son capaces de desencadenar una respuesta inmune, lo que quiere decir que cada determinante antigénico activará un clon de la línea de linfocitos B quien producirá anticuerpos contra él. Los anticuerpos de todos los clones de linfocitos B activados por la molécula inyectada llegarán al suero. Existe una técnica que permite aislar y cultivar de forma *in vitro* e individualizada a cada uno de los clones de linfocitos B activados durante la respuesta inmune, cada uno de esos cultivos producirá un solo tipo de inmunoglobulina G que reconocerá sólo a uno de los determinantes antigénicos de la molécula inyectada por lo que se les denomina monoclonales ya que proceden de linfocitos que producen inmunoglobulinas idénticas (Universidad de Vigo- España, 2015).

Para la inmunomarcación esperada en mastocitoma se usan los anticuerpos monoclonales, Milstein y Köhler en el laboratorio de biología molecular de Cambridge (Reino Unido) los descubrieron en la primera mitad de los años setenta. Para producir una célula B inmortal con especificidad conocida, fusionaron una línea de células de mieloma murino, sensible a ciertos fármacos, con células de bazo de un animal inmunizado. Mediante este procedimiento consiguieron seleccionar solamente las células híbridas y los clones con especificidad conocida (García, 2011).

Michael Potter creó una línea de células tumorales de mieloma de ratón en los años sesenta denominada MOPC21, tenían déficit de enzimas clave para la síntesis de oligonucleótidos por la vía de rescate. El agente fusionante inicial era el virus Sendai, pero luego se reemplazó por polietilenglicol. Las células B provenían de ganglios linfáticos o del bazo de

ratones inmunizados y luego estas células se cultivaban con las de mieloma y el agente fusionante en un medio de cultivo especial (HAT) que no permite la supervivencia de las de mieloma no hibridadas ni de los linfocitos B no fusionados quedando así solamente las células fusionadas, se escogían sólo los deseados y al final se llevaba a cabo la clonación. Los hibridomas creados pueden conservarse indefinidamente en dimetil sulfóxido y los anticuerpos monoclonales se purifican a partir de los sobrenadantes (García, 2011).

#### **5.4 *Ki67* como inmunomarcador para establecer valor pronóstico**

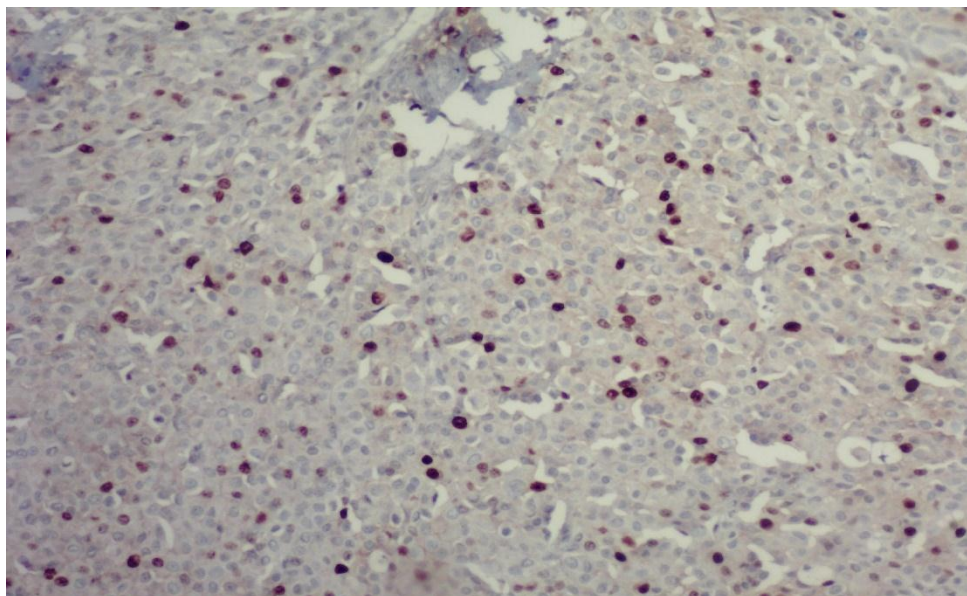
El conteo de las células inmunomarcadas a *Ki67* se realiza en 500 mastocitos los cuales se pueden encontrar en 5 campos de 400X, el resultado final de las células que inmunomarcan positivamente se promedia, cuando el valor es  $> 10.6$  se asocia con un pronóstico malo y  $<10.6$  con un pronóstico favorable. En el estudio realizado por Vascellari et al., (2013) encontraron que el tiempo de sobrevida en caninos con un promedio de inmunomarcación  $>10.6$  es el 95% y 92% para un año y 6 meses respectivamente, y en cuanto a una inmunomarcación  $<10.6$  es de 92% y 77% para un año y 6 meses respectivamente.

*Ki67* es una proteína nuclear que se expresa en todas las fases del ciclo celular, la cual no está presente en células que no se encuentren en multiplicación. Por lo anterior un número relativo de células positivas expresando *Ki67* es usado para determinar un índice de proliferación o el número relativo de células activas en ciclo celular (Fig. 7) (Brugal, 1994. Fernandez et al., 2005. Maglenon et al., 2008. Van et al., 2015). El incremento del conteo de células inmunomarcadas con *Ki67* está significativamente asociado con el incremento de la incidencia después de la cirugía y subsecuente recurrencia en el mismo sitio de remoción quirúrgica ( $p: 0.0111; 0.0017$  respectivamente), y un incremento en la tasa de recurrencia en

sitios diferentes (p: 0.0081), además de un incremento de la incidencia relacionada con la mortalidad (p: 0.0022) Webster et al., (2007).

Para el estudio realizado por Vascellari et al., (2013), se encontró con la clasificación de Kiupel, que la expresión de *Ki67* y el índice mitótico se relaciona con la clasificación y la supervivencia de los caninos con mastocitomas, estando asociada la expresión de *Ki67* con el incremento en la mortalidad en mastocitomas cutáneos (p: 0.049) (Vascellari, 2013. Strefezzi, 2010) sin embargo Van et al., (2015) encontraron que algunos mastocitomas con un bajo índice mitótico también tuvieron un pronóstico desfavorable. De acuerdo al sistema de clasificación de Patnaik et al., (1984), este mismo autor encontró que el valor medio de expresión de *Ki67* para el grado I es de 2,5 en recuento de 100 células, 6.0 para el grado II y de 20 células inmunomarcadas en el grado III. Para el sistema de Kiupel el bajo grado tiene baja identificación de *Ki67*, respecto al alto grado que tiene alta identificación de *Ki67* en las células tumorales (p: 0.002) Vascellari et al., (2013).

Figura 7. Piel, canino. Mastocitoma cutáneo 100X. Inmunomarcación nuclear positiva a células de Mast. Inmunohistoquímica con *Ki67*. CORPAVET (Ricardo Piñeros).



## **6. METODOLOGÍA**

La Corporación Patología Veterinaria CORPAVET cuenta con 3270 casos comprendidos entre los años 2010-2014 de los cuales 2807 (85.8%) pertenecen a caninos, de estos 1057 (37.6%) a casos de piel y 112 (10.5%) a mastocitomas cutáneos los cuales fueron tomados en cuenta para este estudio, de estos se tuvo acceso a la historia remitida al laboratorio, las láminas respectivas de cada caso y del mismo modo a los bloques de parafina. Se seleccionaron 14 tumores de alto grado a los cuales se les realizó inmunohistoquímica para *Ki67* con el fin de establecer valor pronóstico.

### **6.1 Recolección información**

Como primera medida se hizo revisión de las historias de CORPAVET con diagnóstico de mastocitoma cutáneo en caninos de los cuales se extrajo información como edad, raza, sexo y localización de la neoplasia para hacer correlación con lo expuesto en los artículos que describen algún tipo de predisposición entre los parámetros anteriormente nombrados y el mastocitoma.

### **6.2 Reclasificación Grado Histológico**

Se tomaron los cortes para su evaluación histopatológica y reclasificación por el actual sistema propuesto por Kiupel et al., (2011) a aquellos mastocitomas que se encontraban aún con la clasificación de Patnaik et al., (1984).

### **6.3 Base de datos**

Con los datos recolectados se realizó una base de datos en la cual se incluyó la reclasificación con los parámetros descritos por el artículo de Kiupel et al., (2011) donde se evalúa el índice mitótico (IM), presencia de células multinucleadas, núcleos bizarros y el porcentaje de cariomegalia, además de esto se incluyeron datos adicionales como colagenolisis, eosinofilia con el fin de establecer si hay una relación entre la cantidad de eosinófilos y el grado de lisis del colágeno, adicional se examinó al microscopio cuál era el porcentaje de casos que tenían bordes quirúrgicos comprometidos.

### **6.4 Análisis estadístico**

Para el análisis estadístico de la información recolectada se usó el programa StatAdvisor aplicando una *t de Student* para comparación de medias y métodos de clasificación, además de un análisis de frecuencia para evaluación de las siguientes variables: raza, sexo, localización, edad y grado de colagenolisis.

### **6.5 Elección de casos para IHQ con *Ki67***

A partir de la base de datos y el análisis estadístico se tomaron 14 casos de los 26 que correspondían a alto grado según la clasificación de Kiupel et al., 2011. Para la aplicación de la prueba de IHQ con *Ki67* con el fin de establecer el valor pronóstico según lo reportado por Vascellari et al., (2013).

## **6.6 Aplicación de IHQ con Ki67, lectura y categorización para establecer el valor pronóstico**

Después del procesamiento histotécnico de las láminas se procedió a realizar la lectura de cada una de los casos, realizándose el conteo de las células inmunomarcadas a *Ki67* en 500 células de Mast las cuales se podían encontrar en 5 campos de 400X, luego el total se promedió (en los 5 campos de lectura) para realizar la clasificación, dónde superior a >10.2 células se relaciona con un pobre valor pronóstico.

## 7. RESULTADOS

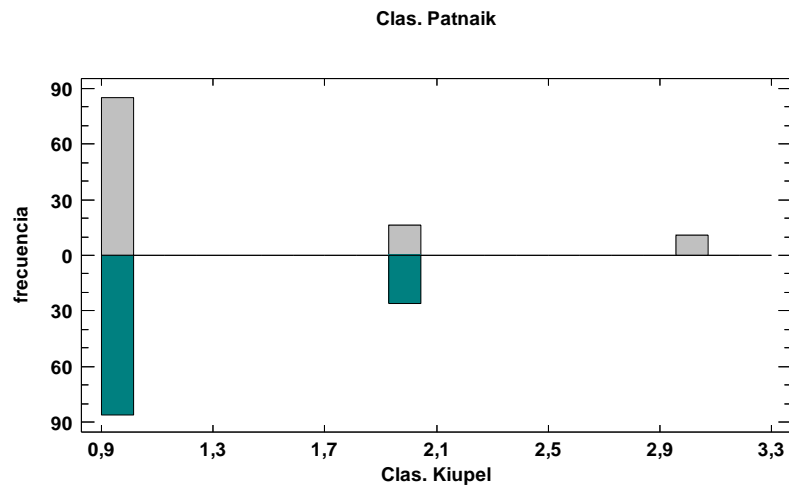
### 7.1 Análisis de resultados

De los 112 casos de este estudio se encontraron 24 razas diferentes, las razas con mayor predisposición que presentaron mastocitomas cutáneos incluyen a los Labrador 30% (n=35), Bóxer 15% (n=17); las demás razas estudiadas sólo presentaban entre 1 a 4 caninos; respecto a la edad el rango de mayor presentación de los 6 a 11 años, sin embargo el rango que se encontró era amplio con cachorros de 9 meses hasta adultos de 16 años; en cuanto al sexo la presentación fue mayor en machos 55% (n=62) que hembras 43% (n=48) y la localización más frecuente fue miembros 30% (n=33) y rostro 21% (n=24).

**7.1.1** Se realizó la reclasificación de la establecida por Patnaik et al., (1984) a la actual de Kiupel et al., (2011), donde se encontró que predominan los mastocitomas de Bajo Grado 77% (n=86) en comparación con los de Alto Grado 23% (n=26) (Figura 8). Para los tumores de alto grado según Kiupel et al., (2011) deben cumplir con algunas de los siguientes criterios de clasificación: índice mitótico  $\geq 7$ , presencia de células multinucleadas  $\geq 3$ , núcleos bizarros  $\geq 3$  y cariomegalia mayor al 10% en un recuento celular en 10 campos de 400X, de éstos mencionados anteriormente, se pudo evidenciar en la reclasificación los cambios histopatológicos característicos de mastocitoma.

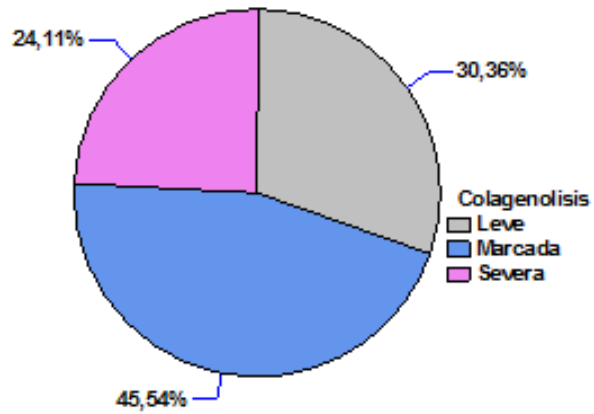


Figura 8. Distribución de los mastocitomas según la clasificación de Patnaik et al., (1984) y Kiupel et al., (2011).



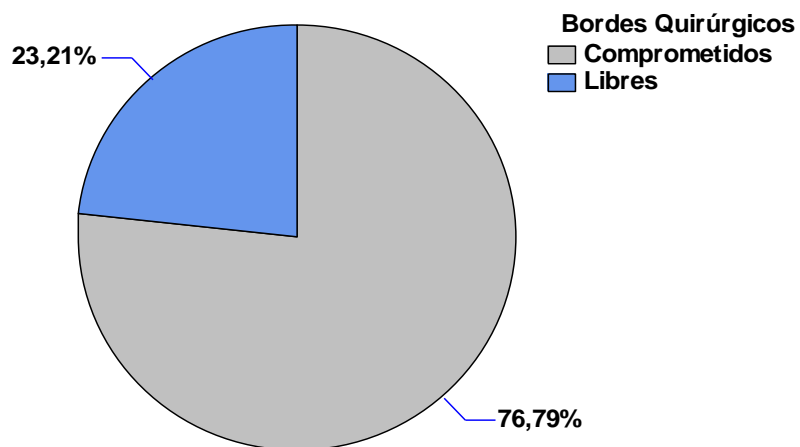
7.1.2 Respecto a la presentación de PMN eosinófilos se observó que de los 112 casos 96 los presentaban en diferentes grados, en el restante no se evidenciaban, la presentación de infiltración de PMN eosinófilos se asoció al grado de colagenolisis (Fig. 9), lo cual se relaciona con el grado de reacción estromal.

Figura 9. Grado de colagenólisis



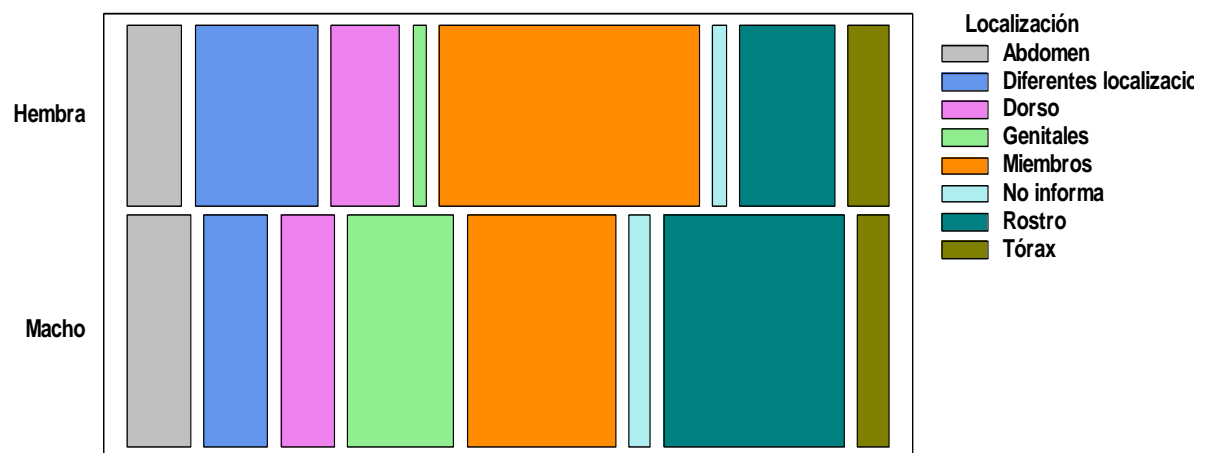
**7.1.3** En la evaluación microscópica de los bordes quirúrgicos, se halló que 76.78% de los casos, los bordes estaban comprometidos y sólo el 23.21% de los bordes estaban libres de la presentación de la neoplasia. (Fig. 10)

Figura 10. Grado de colagenólisis



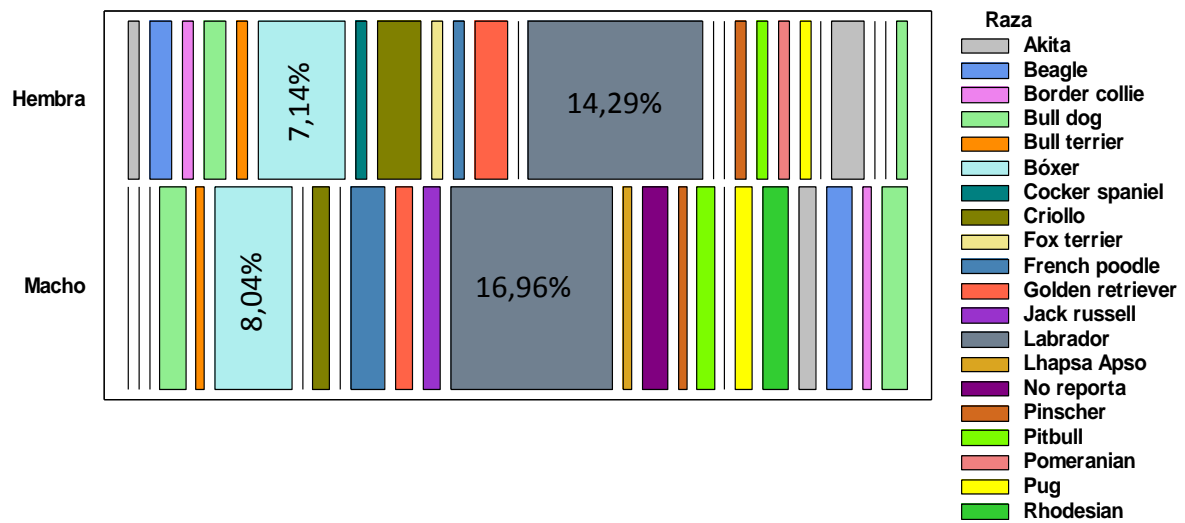
7.1.4 Las hembras de este estudio tuvieron una mayor presentación de este tipo de neoplasia a nivel de los miembros (16.96%) mientras que los machos la presentaron en su gran mayoría a nivel del rostro (15.18%). (Fig. 11)

**Figura 11.** Tabulación cruzada entre sexo y localización



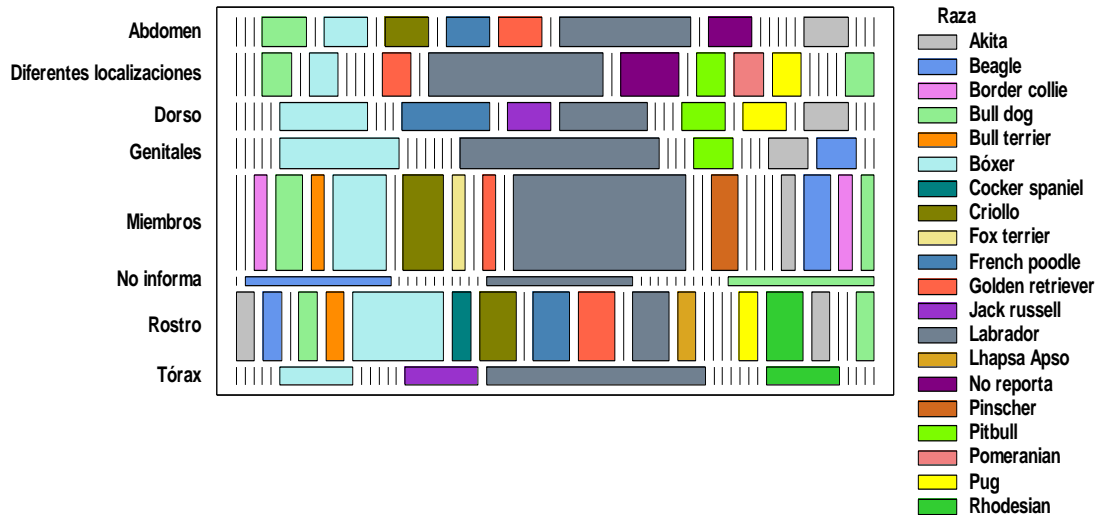
**7.1.5** Se realizó un análisis de frecuencia para establecer correlación entre sexo y raza, encontrándose una tendencia mayor en presentación en machos con respecto a las hembras y en conjunto se evidencia que en ambos sexos las razas que presentan con mayor frecuencia Mastocitoma Cutáneo Canino son el Labrador y el Bóxer (Fig. 12).

**Figura 12.** Tabulación cruzada entre sexo y raza



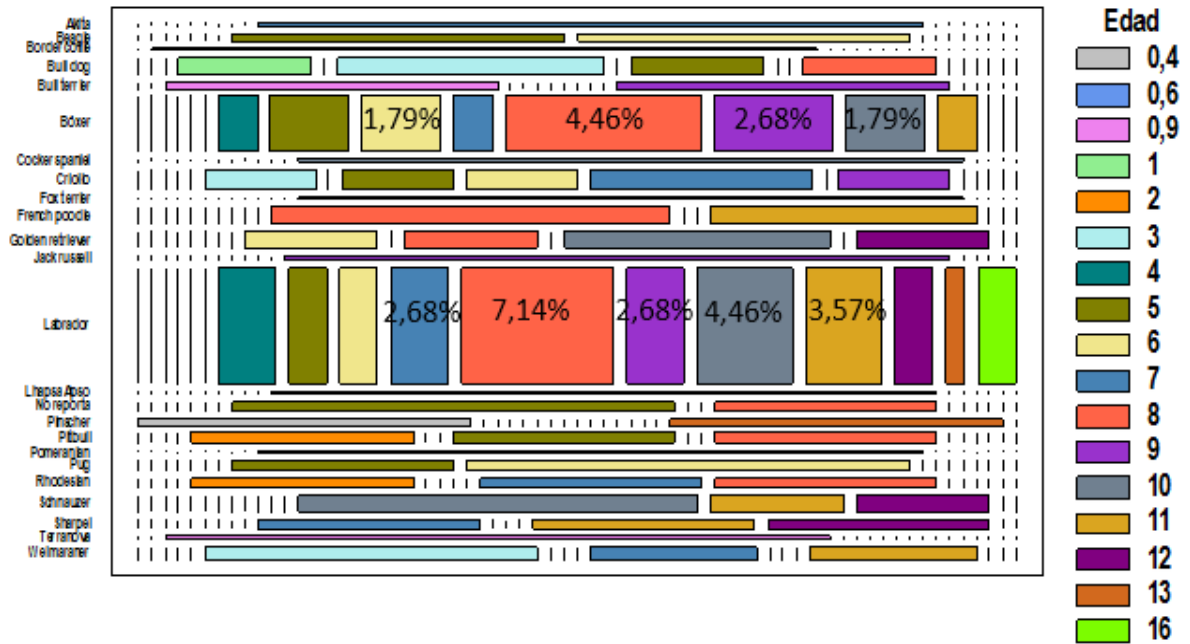
**7.1.6** De igual forma se encontró que la localización se relaciona con la raza, el Labrador Retriever tiene mayor predisposición a presentar este proceso neoplásico en los miembros (11.61%) mientras que los Bóxer lo presentan con mayor frecuencia en el rostro (4.46%) (Fig. 13).

Figura 13. Tabulación cruzada entre localización y raza



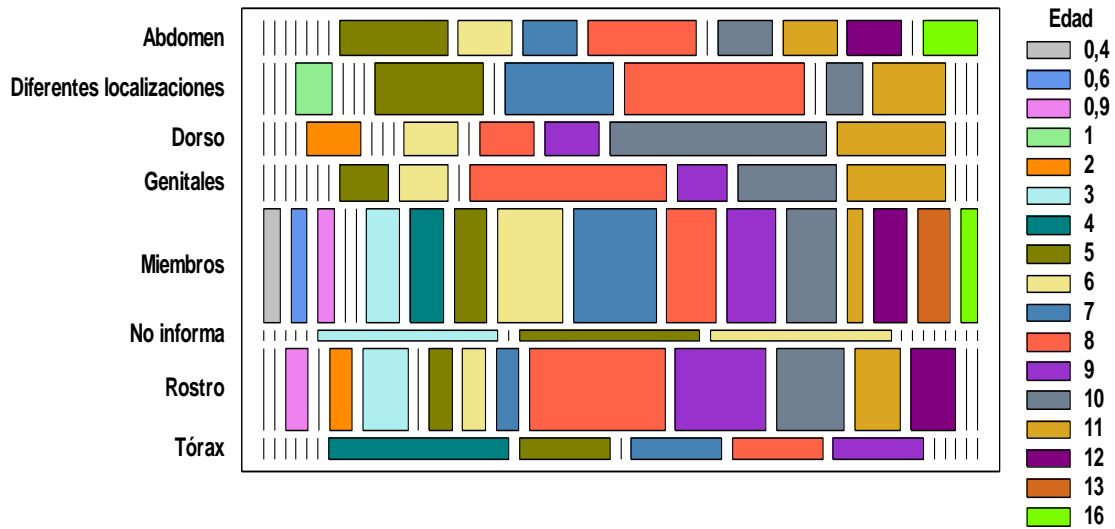
7.1.7 La edad de presentación en las razas con mayor predisposición fue de 6 años en Labrador (7.14%) y Bóxer (4.46%). (Fig. 14)

**Figura 14.** Tabulación cruzada entre raza y edad



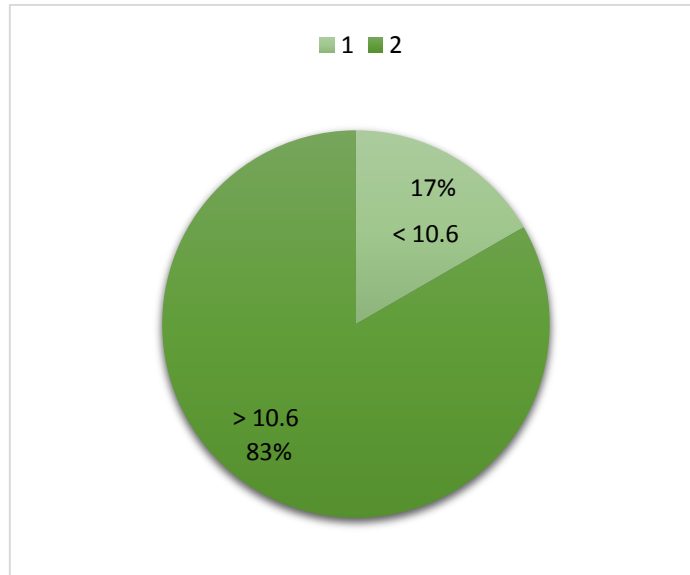
**7.1.8** Respecto a la localización por edad se encontró que este tipo de neoplasia se localiza con mayor frecuencia en miembros y rostro, con una distribución por edad entre los 6 y 11 años. (Fig. 15)

**Figura 15.** Tabulación cruzada entre localización y edad



**7.1.9** De los 14 casos evaluados por medio de inmunohistoquímica (IHQ) se observó que la mayoría presentaban una inmunomarcación  $\geq 10.2$  células en promedio en 5 campos de 400X [(n=12) (83%)], mientras el restante categorizados como mastocitomas de alto grado tuvieron una inmunomarcación positiva  $\leq 10.2$  células en promedio en 5 campos de 400X [(n=2)(17%)]. (Fig. 16)

**Figura 16.** Evaluación de mastocitomas de Alto Grado (Kiupel et al., 2011) por inmunohistoquímica (IHQ) con Ki67 para establecer su valor pronóstico.





## 8. DISCUSIÓN

En la correlación que se realizó de la casuística de CORPAVET con la clasificación de Patnaik et al., (1984) y la reclasificación de cada uno de estos casos a la más actual propuesta por Kiupel et al., (2011), en el análisis estadístico de este estudio se pudo mostrar que no obstante a los sistemas de clasificación la gran mayoría de tumores se agrupan entre grado I y bajo grado y en menor proporción grado III y alto grado. Se debe tener en cuenta que puede existir variaciones de los porcentajes según la cantidad de patólogos que realizan el diagnóstico puesto que a diferencia del estudio de Kiupel et al., (2011) en CORPAVET durante estos años estaba a cargo de dos a tres patólogos.

La importancia de observar el grado de compromiso de los bordes radica en las recidivas que se puedan dar a futuro en el paciente Elston et al., (2009). El estudio reveló que existe un alto porcentaje (76.79%) de compromiso de los bordes quirúrgicos, esto quiere decir que a la hora de realizar la escisión de las masas tumorales no se retira por completo el proceso neoplásico y bien, esto puede deberse a la localización de ésta o al nivel de conocimiento y practicidad del cirujano a la hora de realizar el abordaje quirúrgico.

Aunque la lista de razas caninas que han cursado con mastocitoma cutáneo es amplia, la presentación es mayor en razas como el Labrador Retriever y el Bóxer en ambos sexos lo que concuerda con el estudio realizado por Shoop et al., (2015) donde las razas que mayor predisposición en Inglaterra tienen a la presentación de mastocitoma son las anteriormente nombradas además de Staffordshire Bull Terrier, Golden Retriever y Jack Russell Terrier. Estudios anteriores como el realizado por Strefezzi (2003) establecen que no existe predisposición por sexo, sin embargo es posible observar en este estudio que hay una mayor

presentación en machos que hembras en los años estudiados aunque en la actualidad no se haya establecido una correlación entre el sexo y el mastocitoma.

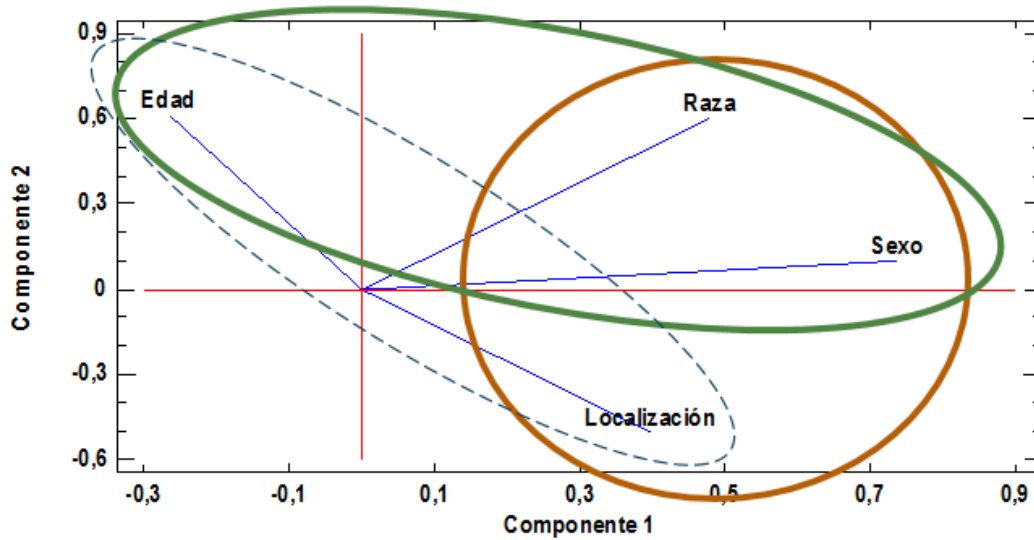
Los datos presentados concuerdan con los arrojados por Simoes (1994) donde la localización con mayor presentación de mastocitoma son los miembros, sin embargo este autor menciona principalmente miembros posteriores, así como el tórax y el abdomen. No obstante se evidencia en este estudio que la presentación de individuos con presentación en tórax y abdomen es menor, de igual forma resalta la aparición de mastocitomas en rostro lo que concuerda con los resultados arrojados por Thompson (2011) donde extremidades y cabeza/cuello hacen parte de las localizaciones más frecuentes, pudiendo correlacionar esta información con la localización de mayor presentación para cada sexo, siendo así más predisponente miembros en hembras y rostro en machos.

La mayor presentación en cuanto a localización y raza está dada por miembros y rostro en las razas Labrador y Bóxer respectivamente. La asociación entre estas dos nos deja ver que en la raza Labrador es más frecuente la presentación en miembros mientras que en el Bóxer es más frecuente la presentación en rostro.

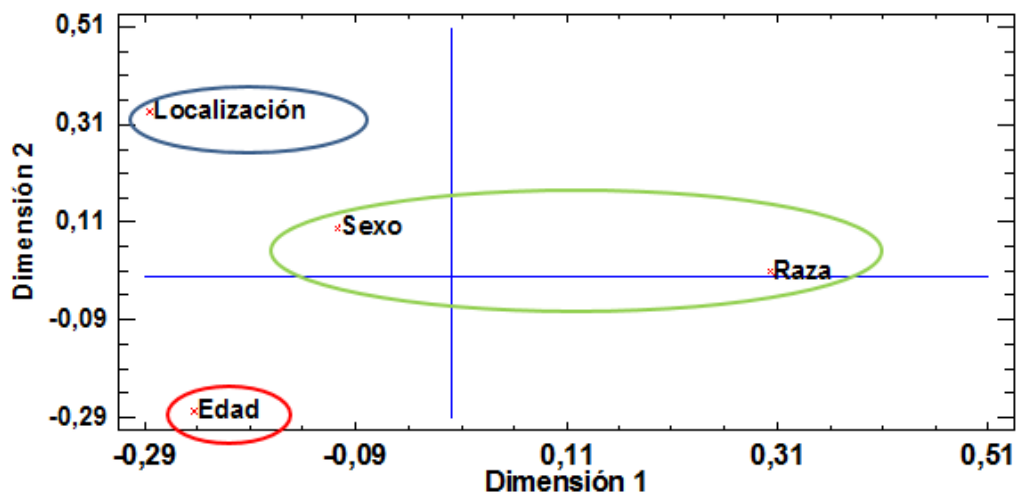
Teniendo en cuenta la predisposición por raza, la edad del Labrador y el Bóxer donde se presenta con mayor frecuencia va de 7 años a 11 años y 6 años a 10 años respectivamente; estos datos arrojados en el estudio son similares a los obtenidos por Patnaik et al, (1984), donde se establece un rango de edad de 8.2 años a 10.5 años así como en el realizado por Webster et al., (2007) donde se estableció un promedio de 9.7 años de edad.

Existe relación entre raza, sexo y localización pero no entre edad y localización (Fig. 17), sin embargo hay una relación más estrecha de asociación entre raza y sexo (tienen mayor relación por encontrarse cada uno de estos más cerca al punto cero del eje X y Y) que predisponen a la presentación de este tipo de neoplasia de células redondas (Fig.18).

**Figura 17.** Análisis multivariado de los componentes principales



**Figura 18.** Análisis de correspondencia de los componentes principales



La inmunomarcación con Ki67 nos permite establecer el valor pronóstico de los caninos, ya que se ha demostrado que tiene una alta relación con el IM donde se ha demostrado que

individuos con un índice mitótico  $\geq 5$  tienen una tasa de supervivencia menor que los que presentaron un índice mitótico  $\leq 5$ , al igual la mortalidad es 8 veces mayor en los pacientes que presentan una inmunomarcación  $\geq 10.26$ .

## 9. CONCLUSIONES

No obstante que los sistemas de clasificación propuestos por Patnaik et al., (1984) y Kiupel et al., (2011) tienen distintos parámetros de categorización, se evidencia que la gradación de los mastocitomas (en su mayoría) sigue siendo grado I o bajo grado respectivamente.

Existe relación entre raza, sexo y localización pero no entre edad y localización, por ende se concluye que para este estudio el rango de edad, la raza y el sexo de mayor predisposición está entre los 6 a 11 años en Labrador y Bóxer con mayor frecuencia en machos que hembras, además con mayor presentación de miembros para las hembras Labrador Retriever y rostro en machos Bóxer.

Existe una relación más estrecha de asociación entre raza y sexo que predisponen a la presentación de este tipo de neoplasia de células redondas, la localización y la edad no son parámetros que representen una predisposición mayor en asociación a otro parámetro, se comportan de forma individual.

Es importante evaluar los mastocitomas clasificados como alto grado según la clasificación de Kiupel et al., (2011), aplicando IHQ con Ki67 con el fin de establecer el valor pronóstico de los individuos, sin dejar de lado la aplicación de otras pruebas inmunohistoquímicas que podrían de igual forma establecer valor pronóstico pero que en la actualidad se encuentran en estudio o aún no están disponibles en el país.

Establecer con exactitud el valor pronóstico de los caninos que hicieron parte del estudio a nivel clínico no fue posible debido a la falta de información por parte de los mismos, sólo se pudo establecer a nivel histopatológico.

## **10. RECOMENDACIONES**

Realizar histopatología para poder establecer el grado de malignidad del mastocitoma en los caninos.

Utilizar pruebas diagnósticas de laboratorio adicionales como IHQ e histoquímica para establecer valor pronóstico, se debe tener en cuenta la importancia del uso de dos o más inmunomarcadores para precisar el valor diagnóstico y pronóstico.

Implementar pruebas de histoquímica en el país como AgNORS que tienen mayor especificidad y afinidad por el mastocitoma, ya que actualmente no está disponible para Colombia.

Debe existir mayor comunicación entre clínicos y patólogos para hacer el seguimiento completo a los pacientes que presenten mastocitoma, de esta forma permitir precisar los diagnósticos y tomar las decisiones más adecuadas en cada individuo.

## 11. REFERENCIAS

Blackwood, L., Murphy, S., Buracco, P., DeVos, J., De Fornel-Thibaud, Hirschberger, J., Kessler, M., Pastor, J., Ponce, F., Savary-Batailleand, K. and Argyle, D. European (2012) Consensus document on mast cell tumours in dogs and cats. *Veterinary and Comparative Oncology*, 10,3, e1 – e29

Duncan, J. & Prasse, K. (1979). Cytology of Canine Cutaneous Round Cell Tumors: Mast *Veterinary Pathology* 1979 16: 673.

Elston LB, Sueiro FA, Cavalcanti JN, Metze K. The importance of the mitotic index as a prognostic factor for survival of canine cutaneous mast cell tumors: a validation study. *Vet Pathol*. 2009 Mar; 46(2):362-4.

Fernandez, N., West, N., Jackson, M., & Kidney, B. (2005). Immunohistochemical and Histochemical Stains for Differentiating Canine Cutaneous Round Cell Tumors. *Veterinary Pathology* 2005 42: 437.

García, A. (2011). Anticuerpos monoclonales. Aspectos básicos. *ELSEVIR*. Vol. 26. Núm. 05. Junio 2011.

Ginn P., L. E. Fox, J. C. Brower, A. Gaskin, I. D. Kurzman and P. S. Kubilis (2000) Immunohistochemical Detection of p53 Tumor-Suppressor Protein is a Poor Indicator of Prognosis for Canine Cutaneous Mast Cell Tumors. *Veterinary pathology* 37: 33.

Kiupel M., Webster, J. D., Bailey, K. L., Best, S., DeLay, S. J., Detrisac, C. J.,... Miller, R. (2011). Proposal of a 2-Tier Histologic Grading System for Canine Cutaneous Mast Cell Tumors to More Accurately Predict Biological Behavior. *Veterinary Pathology*, 48: 147

Patnaik, A., Ehler, W. & MacEwen E. (1984). Canine Cutaneous Mast Cell Tumor: Morphologic Grading and Survival Time in 83 Dogs. *Veterinary pathology* 21: 469.

Ponce, F., Marchal, T., Magnol, J., Turinelli, V., Ledieu D., Bonnefont, C., Pastor, M., Delignette, M., and 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. *Veterinary Pathology. Vol. 47 no. 3 414-433*

Rios, A. (2008). Mastocitoma canino y felino. *Clin. Vet. Peq. Anim*, 28 (2): 135-142, 2008

Romansik, E., Reilly, C., Kass, P., Moore, P., & London, C. (2007). Mitotic Index Is Predictive for Survival for Canine Cutaneous Mast Cell Tumors. *Veterinary Pathology* 2007 44: 335.

Rönnberg, E., Melo, F. & Pejler, G. (2012) Mast Cell Proteoglycans. *J Histochem Cytochem* 2012 60: 950.

Shoop, S., Marlow, S., Church, D., English, K., McGreevy, D, Stell, A., Thomson, P., O'Neill, D., and Brodbelt, D (2015). Prevalence and risk factors for mast cell tumours in dogs in England. *Canine Genet Epidemiol.* 2015; 2: 1.

Simoës, J., Schoning, P. & Butine, M. (1994). Prognosis of Canine Mast Cell Tumors: A Comparison of Three Methods *Veterinary Pathology* 1994 31: 637

Strefezzi, R., Xavier, J., & Catão-Dias J. (2003). Morphometry of Canine Cutaneous Mast Cell Tumors. *Veterinary Pathology* 2003 40: 268.

Takeuchi, Y., Fujino, Y., Watanabe, M., Takahashi, M., Nakagawa, T., Takeuchi, A., Makoto Bonkobara, M. (2013). Validation of the prognostic value of histopathological grading or c-kit mutation in canine cutaneous mast cell tumours: A retrospective cohort study. *The Veterinary Journal* 196 (2013) 492–498.

Thompson J., Pearl, D. L., Yager, J. A., Best, S. J., Coomber, B. L. & Foster. R. A. (2011). Canine Subcutaneous Mast Cell Tumor: Characterization and Prognostic Indices. *Veterinary Pathology* 48: 156.

Thompson, J., Yager, J., Best, S., Pearl, D., Coomber, B., Torres, R., Kiupel, M., & Foster, R. (2011). Canine Subcutaneous Mast Cell Tumors: Cellular Proliferation and KIT Expression as Prognostic Indices. *Veterinary Pathology* 2011 48: 169.

Universidad de Vigo – España. Atlas de Histología Vegetal y Animal  
Depto. de Biología Funcional y Ciencias de la Salud.  
Facultad de Biología. Actualizado: 27-02-2015

Vascellari M., M. Giantin, K. Capello, A. Carminato, E. M. Morello, A. Vercelli, A. Granato, P. Buracco... Mutinelli, F. (2013). Expression of Ki67, BCL-2, and COX-2 in Canine Cutaneous Mast Cell Tumors: Association with Grading. *Veterinary Pathology* 50: 110.

Yamate, S., Fumimoto, M., Kuwamura, T., Kotani and J. Lamarre. Characterization of a Rat Subcutaneous Malignant Fibrous Histiocytoma and Its Tumor Lines, with Reference to Histiocytic Features. *Vet Pathol* 2007 44: 151

Webster J., V. Yuzbasiyan-Gurkan, R. A. Miller, J. B. Kaneene and M. Kiupel (2007). Cellular Proliferation in Canine Cutaneous Mast Cell Tumors: Associations with c-KIT and Its Role in Prognostication. *Veterinary Pathology* 244: 298.