Estudio retrospectivo de neoplasias melanocíticas en caninos en el laboratorio de histopatología de la Universidad de La Salle

Sazi Alberto Camacho Vargas

Universidad de La Salle, Bogotá

Follow this and additional works at: https://ciencia.lasalle.edu.co/medicina_veterinaria

Part of the Small or Companion Animal Medicine Commons, and the Veterinary Pathology and Pathobiology Commons

Citación recomendada

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.
ESTUDIO RETROSPECTIVO DE NEOPLASIAS MELANOCÍTICAS EN CANINOS EN EL LABORATORIO DE HISTOPATOLOGÍA DE LA UNIVERSIDAD DE LA SALLE

SAZI ALBERTO CAMACHO VARGAS

UNIVERSIDAD DE LA SALLE

PROGRAMA DE MEDICINA VETERINARIA

BOGOTÁ D.C., OCTUBRE DE 2017
ESTUDIO RETROSPECTIVO DE NEOPLASIAS MELANOCÍTICAS EN CANINOS EN EL LABORATORIO DE HISTOPATOLOGÍA DE LA UNIVERSIDAD DE LA SALLE

SAZI ALBERTO CAMACHO VARGAS

14111143

Tutora:

DRA. IOVANA CLARENA CASTELLANOS LONDOÑO

MV, M.Sc, Esp.

UNIVERSIDAD DE LA SALLE

PROGRAMA DE MEDICINA VETERINARIA

BOGOTÁ D.C., OCTUBRE DE 2017
<table>
<thead>
<tr>
<th>Capítulo</th>
<th>Título</th>
<th>Páginas</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>1</td>
<td>Resumen</td>
<td>7</td>
</tr>
<tr>
<td>2</td>
<td>Abstract</td>
<td>9</td>
</tr>
<tr>
<td>3</td>
<td>Planteamiento del problema</td>
<td>11</td>
</tr>
<tr>
<td>4</td>
<td>Objetivos</td>
<td>13</td>
</tr>
<tr>
<td>4.1</td>
<td>Objetivo general</td>
<td>13</td>
</tr>
<tr>
<td>4.2</td>
<td>Objetivos específicos</td>
<td>13</td>
</tr>
<tr>
<td>5</td>
<td>Marco teórico</td>
<td>14</td>
</tr>
<tr>
<td>5.1</td>
<td>Melanocitos</td>
<td>14</td>
</tr>
<tr>
<td>5.2</td>
<td>Neoplasias melanocíticas</td>
<td>14</td>
</tr>
<tr>
<td>5.3</td>
<td>Aspectos epidemiológicos</td>
<td>15</td>
</tr>
<tr>
<td>5.4</td>
<td>Características clínicas</td>
<td>15</td>
</tr>
<tr>
<td>5.5</td>
<td>Comportamiento biológico</td>
<td>17</td>
</tr>
<tr>
<td>5.6</td>
<td>Diagnóstico</td>
<td>18</td>
</tr>
<tr>
<td>5.7</td>
<td>Síndromes paraneoplásicos</td>
<td>24</td>
</tr>
<tr>
<td>5.8</td>
<td>Tratamiento</td>
<td>24</td>
</tr>
<tr>
<td>5.9</td>
<td>Pronóstico</td>
<td>25</td>
</tr>
<tr>
<td>6</td>
<td>Metodología</td>
<td>26</td>
</tr>
<tr>
<td>6.1</td>
<td>Selección de los casos</td>
<td>26</td>
</tr>
<tr>
<td>6.2</td>
<td>Histopatología</td>
<td>26</td>
</tr>
</tbody>
</table>
Lista de tablas

Tabla 1: Esquema estadificación de la organización mundial de la salud para melanoma oral canino...............................................................17

Tabla 2
Frecuencia en caninos que presentaron neoplasia melanocítica según la raza.........................29

Tabla 3
Distribución de la localización de las masas...............................................................31

Tabla 4
Distribución de la localización de las masas de piel y mucosa.......................................31

Tabla 5
Distribución del tamaño de las masas por diagnóstico histopatológico. .........................32

Tabla 6
Cantidad de pigmento en piel (%) de la literatura previa y el presente estudio. ...............35

Tabla 7
Distribución de las masas según el índice mitótico......................................................36

Tabla 8
Relación de diversos criterios histopatológicos según la localización específica de masas en piel........................................................................................................................................38

Tabla 9
Relación de diversos criterios histopatológicos según la localización específica de masas en mucosa........................................................................................................................................38
Lista de figuras

Figura 1 Neoplasia melanocítica de canino con proliferación de células en la unión dermo-epidermal .......................................................................................................................................................... 19

Figura 2 Melanoma canino de gíngiva de células epitelioides ................................................................................................................................. 21

Figura 3 Melanocitoma canino de células fusiformes en la piel de la cabeza ............................................................ 22

Figura 4 Melanoma oral canino de células mixtas ................................................................................................................................. 22

Figura 5 Distribución en porcentajes de la presentación de las neoplasias melanocíticas por grupos etarios........................................................................................................................................................................ 29

Figura 6 Distribución de la localización de la masa por raza .............................................................................................................. 30

Figura 7 Distribución en porcentajes del tamaño de las masas por localización .................................................................................. 33

Figura 8 Distribución en porcentajes de la morfología celular .............................................................................................................. 34

Figura 9 Melanoma oral canino de escaso pigmento ............................................................................................................................. 34

Figura 10 Melanoma cutáneo canino de moderado pigmento ................................................................................................................. 35

Figura 11 Melanoma canino en parpado con severo pigmento ............................................................................................................. 35

Figura 12 Melanoma cutáneo canino con gran cantidad de linfocitos infiltrados .................................................................................. 37

Figura 13 Melanoma cutáneo canino positivo al marcador S100 .......................................................................................................... 39

Figura 14 Melanoma cutáneo canino con infiltración de células neoplásicas en los vasos sanguíneos ........................................................................................................................................................................ 45
1. Resumen

Las neoplasias melanocíticas derivan de los melanocitos de la piel y son relativamente frecuentes en caninos adultos y gerontes; pueden aparecer en la piel y en el globo ocular como neoplasias benignas y en membranas mucosas y uniones mucocutáneas donde generalmente son malignas.

El objetivo de este estudio fue determinar los aspectos clínico-patológicos de las neoplasias melanocíticas en caninos, para lo cual se seleccionaron los casos de caninos diagnosticados como neoplasia melanocítica o sospechosos de melanoma y que fueron remitidos al Laboratorio de Histopatología de la Universidad de la Salle en la ciudad de Bogotá en el periodo 1995 a 2015; se tuvieron en cuenta datos como edad, género, raza, localización anatómica y diagnóstico histopatológico. A partir de esto, se analizaron 68 casos de neoplasias melanocíticas y 12 casos determinados como sospechosos de neoplasia melanocítica. De este estudio se encontró un pico de presentación en los animales de 7 a 12 años (44,1%) y principalmente en machos (64,71%); las razas más comunes fueron Golden Retriever (11,8%), Schnauzer (11,8%), Labrador Retriever (8,8%) y French Poodle (8,8%) y las localizaciones anatómicas más frecuentes fueron en piel con 47,06% (principalmente en abdomen y tórax) seguida de la cavidad oral con 26,47% (principalmente de gónviga). En cuanto a los parámetros histológicos, se observaron, de forma más común, los tumores mixtos (38,24%) pero no hubo una diferencia notable con los tumores de células epitelioides y fusiformes; los tumores de cavidad oral y dedos, mostraron mayor índice mitótico a diferencia de los de piel y párpado, evidenciando un comportamiento más maligno en los primeros sitios anatómicos. De los 12 tumores que fueron diagnosticados como “sospechoso de neoplasia melanocítica”, 3 fueron confirmados con tinción tricrómica de Masson, y en los 9 restantes se utilizó inmunohistoquímica con el marcador S100, de estos últimos solo uno fue positivo a este marcador. Los resultados obtenidos en este estudio coinciden
con la literatura observando que las neoplasias melanocíticas son más frecuentes en caninos a partir de los 7 años, además de presentarse más comúnmente en piel y cavidad oral; y se mostró que la localización es un factor importante en el comportamiento biológico del tumor, determinado principalmente por el índice mitótico. También se observó el marcador S100 de inmunohistoquímica como una herramienta útil para la confirmación del diagnóstico de melanoma, pero se recomienda evaluar la sensibilidad y especificidad del mismo.
2. Abstract

Melanocytic neoplasm derives from skin melanocytes and are relatively frequent in adult and old canines; may appear in the skin and in the eyeball as benign neoplasms, and in mucous membranes and mucocutaneous junctions where they are generally malignant. The objective of this study is to determine the clinical and pathological aspects of melanocytic neoplasms in canines, for this purpose, the canine cases diagnosed as melanocytic neoplasia or melanoma suspects were selected and sent to the histopathology laboratory of La Salle University in Bogota city in the period from 1995 to 2015; Data such as age, sex, breed, anatomical location and histopathological diagnosis were taken into account. From this, 68 cases of melanocytic neoplasm and 12 cases determined as suspects of melanocytic neoplasia were analyzed. From this study a peak of presentation was found in animals of 7 to 12 years old (44.1%) and mainly in males (64.71%); The most common breeds were Golden Retriever (11.8%), Schnauzer (11.8%), Labrador Retriever (8.8%) and French Poodle (8.8%) and the most frequent anatomical locations were in skin with 47.06% (mainly in the abdomen and thorax) followed by the mouth with 26.47% (mainly gingiva). In the histological parameters, mixed tumors were more commonly observed (38.24%) but there was no significant difference with epithelioid and spindle cell tumors; The tumors of the mouth and fingers showed a higher mitotic index than the skin and eyelid tumors, evidencing a more malignant behavior of these first anatomical sites. Of the 12 tumors that were diagnosed as "suspected of melanocytic neoplasia", 3 were diagnosed with trichrome staining, and 9 were staining immunohistochemically with the S100 marker, of which only one was positive at this marker. Conclusions: The results obtained in this study coincide with the literature, noting that melanocytic neoplasm are more frequent in canines from the age of 7 years old, besides presenting more commonly in skin and mouth and showing that
localization is an important factor in the biological behavior of the tumor, mainly determined by the mitotic index. It was also observed that the immunohistochemical marker S100 is a useful tool for confirming diagnosis of melanoma, but it is recommended to evaluate its sensitivity and specificity.
3. Planteamiento del problema

En diferentes países, como India (Chikweto et al., 2011) o Korea (Pakhrin et al., 2007), se han realizado análisis retrospectivos de la prevalencia de las diferentes neoplasias cutáneas, y otros estudios han realizado análisis de los aspectos clínico-patológicos específicamente en neoplasias melanocíticas (Lacroux et al., 2012 y Millanta et al., 2002). Este tipo de estudios no se había realizado en Colombia por lo que este estudio ofrece un aporte literario de las formas de presentación de las neoplasias melanocíticas en Bogotá - Colombia, en caninos ya que diferentes reportes y diversas fuentes bibliográficas resaltan al melanoma como una neoplasia cutánea relativamente frecuente (Chikweto et al., 2011; Pakhrin et al., 2007 y Withrow & MacEwen’s, 2009) al igual que el melanoma oral, que es visto como una de las causas más frecuentes de malignidad debido al mal pronóstico que conlleva, ya que se ha llegado a determinar que la mortalidad del melanoma oral puede llegar a ser alta, en especial por el alto potencial metastásico que posee, el cual puede llegar a ser del 70 al 90% independiente del sitio de la cavidad oral en el cual se origine la neoplasia, y siendo los sitios más comunes de metástasis los nódulos linfáticos regionales, el pulmón, otros órganos e incluso el corazón a diferencia de la presentación cutánea, que a excepción de los melanomas digitales, se estima que menos del 5% de estos tumores son malignos (Smith, Goldschmidt & Mcmanus, 2002; Sulaimon et al., 2002).

Cabe destacar que en el perro, las neoplasias melanocíticas son objeto de estudio principalmente para el desarrollo de nuevos tratamientos, gracias a las similitudes que comparten estas neoplasias en caninos y en humanos (Fukumoto et al., 2013), además de ser modelos de estudios genéticos no consanguíneos en animales inmunológicamente intactos en los que el cáncer se produce de manera espontánea, ya que esto refleja mejor la génesis del tumor comparado con las neoplasias inducidas experimentalmente. Además, estos tumores en modelos animales tienen una
presentación clínica similar, biología del tumor y apariencia histopatológica con su contraparte en humanos, y usualmente progresan más rápido acortando los tiempos de maduración (Atherton, Morris, McDermott & Lichty, 2016).
4. Objetivos

4.1. Objetivo general
Recopilar y clasificar los aspectos clínico-patológicos de las neoplasias melanocíticas en caninos.

4.2. Objetivos específicos
- Clasificar por histopatología el grado histológico de las neoplasias melanocíticas estudiadas en el periodo comprendido entre 1995 a 2015.
- Identificar casos problema sospechosos de melanoma para hacer diagnóstico inmunohistoquímico.
- Evaluar los aspectos clínicos de los casos o estudiar (edad, raza, sexo, localización).
5. Marco teórico

5.1. Melanocitos
Son células que se encuentran principalmente en la piel (Lacroux et al., 2012), pero también en el ojo en el coroides de la túnica vascular y en el estroma del tejido conectivo del iris (Bacha & Bacha, 2012), su función es sintetizar melanina, que es el pigmento de la piel y el pelo y funciona como barrera protectora contra los rayos ultravioleta (Nesbitt, citado por Castellanos, Rodríguez & Iregui, 2005). Estas células se encuentran en la capa basal de la epidermis, rodeando los queratinocitos (Smith et al., 2002), poseen citoplasma claro y núcleo pequeño y esférico (Nesbitt, citado por Castellanos et al., 2005). Estas células se derivan del ectodermo (Smedley et al., 2011), específicamente de las células de la cresta neural, las cuales dan origen a varias líneas celulares como lo son las neuronas sensoriales, células gliales, melanocitos, cartílago craneofacial y hueso, y músculo liso (Liu et al., 2014).

5.2. Neoplasias melanocíticas
Son tumores cancerígenos que se derivan de los melanocitos; se denominan melanocitomas todas aquellas neoplasias derivadas de los melanocitos, de tipo benigno, mientras que los tumores malignos en este tipo de neoplasias, reciben el nombre de melanomas (Lacroux et al., 2012). Su etiología no está completamente descrita, aunque se han asociado principalmente a factores genéticos que a su vez están ligados a su presentación; sin embargo, en medicina veterinaria de pequeños animales, debido a que esta neoplasia se sitúa generalmente en áreas con pelo o en la cavidad oral, no se puede asociar a la radiación solar como un factor de riesgo (Withrow & MacEwen’s, 2009). El desarrollo de esta neoplasia se considera un proceso de varios pasos que inician con una serie de alteraciones en los melanocitos, las cuales llevan a un aumento en la proliferación y supervivencia de los mismos en una fase de crecimiento horizontal; luego de esto
inicia una fase de crecimiento vertical en la cual las células tumorales invaden profundamente dentro de la dermis e hipodermis hasta el punto en el que algunas células logran pasar a través del endotelio e inician lo que se considera una metástasis (Liu et al., 2014).

5.3. Aspectos epidemiológicos

Estadísticamente, se ha establecido que el melanoma aparece en el 5 al 7% de los perros que presentan algún tumor en la piel, mientras que en gatos se ha descrito como menos frecuente, siendo entre el 0,8 y el 2,7% de los tumores cutáneos (Withrow & MacEwen’s, 2009). En perros, el melanoma también constituye una de las principales neoplasias más comúnmente encontradas en los ojos, siendo el tumor primario intraocular más común en estos animales (Martens, 2007). Ha sido reportado con mayor frecuencia en perros de piel muy pigmentada como en el caso de Schnauzer y Scottish Terrier (Bergman, 2007 y Dobson, 2012). En la variante oral del melanoma se ha reportado mayor riesgo en pequeñas razas como Cocker Spaniel, Poodles y perros con mucosa oral pigmentada. Se ha demostrado además que las razas como el Chow Chow y cruces de Pekingese/Poodle tienen una mayor predisposición a desarrollar melanoma oral (Dobson, 2012). Se ha asociado su presentación principalmente en perros viejos, aunque puede ser encontrado también en animales jóvenes; no se ha visto una predilección clara en el género, aunque puede ser más frecuente en machos que en hembras (Bergman, 2007; Lacroux et al., 2012; Smith, Goldschmidt & McManus, 2002).

5.4. Características clínicas

5.4.1. Presentación clínica: Por lo general los tumores presentan una tonalidad que puede variar desde negro, a varias tonalidades de café, gris o rojo, dependiendo de la cantidad de melanina en el tumor; además cuando se encuentran en la piel por lo general muestran una pérdida de pelo sobre la zona del tumor y puede tener varios aspectos e incluso tener
áreas pigmentadas y no pigmentadas (Meuten, 2017). En los casos que el tumor se presenta como una masa pobremente pigmentada, su diagnóstico resulta más difícil en especial cuando es poco diferenciado ya que resulta difícil e incluso imposible distinguirlo hasta de un sarcoma de tejidos blandos (Smedley et al., 2011).

5.4.2. **Localización anatómica:** Un factor a tener en cuenta es el sitio anatómico en el cual se presenta, puesto que en algunos casos puede asociarse a una menor o mayor malignidad de la neoplasia (Bergman, 2007); por lo que cabe resaltar los sitios anatómicos más destacables y las presentaciones que suele tener:

- **Piel:** Se ha descrito que los tumores que aparecen en la piel, son generalmente de crecimiento lento por lo que éstos se asocian a tumores benignos (Withrow & MacEwen’s, 2009). Sin embargo, las neoplasias que se encuentran en los dedos o en uniones mucocutáneas como puede ser en labio y el lecho ungueal, por lo general suelen ser malignas y consecuentemente de mal pronóstico y difícil tratamiento (Lacroux et al., 2012; Meuten, 2017 y Withrow & MacEwen’s, 2009).

- **Mucosas:** Las neoplasias localizadas en la mucosa oral por lo general resultan ser en su mayoría malignas, ya sea por recurrencia luego de la resección quirúrgica, desarrollo de metástasis o muerte del paciente (Lacroux et al., 2012; Meuten, 2017 y Withrow & MacEwen’s, 2009).

- **Melanoma Uveal:** Este tumor se presenta por una proliferación neoplásica de los melanocitos uveales e involucra el iris, cuerpo ciliar y en pocas ocasiones la coroides (Martens, 2007). Por lo general este tumor es benigno; sin embargo, con frecuencia se desarrollan complicaciones secundarias como uveítis, glaucoma o
hifema, los cuales se asocian en muchos casos a neoplasias de gran tamaño o de rápido crecimiento que generan un aumento en la presión intraocular por lo que en la mayoría de estos casos el tratamiento de elección es la enucleación; su apariencia es nodular, además se encuentran fuertemente pigmentados (Martens, 2007).

5.4.3. **Estadificación Clínica**: En la tabla 1 se observa la clasificación TNM de la OMS para el melanoma oral canino.

**Tabla 1**: Esquema Estadificación De La Organización Mundial De La Salud Para Melanoma Oral Canino

<table>
<thead>
<tr>
<th>T: Tumor primario</th>
<th></th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>T1 Tumor &lt;2 cm en diámetro</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>T2 Tumor de 2-4 cm en diámetro</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>T3 Tumor &gt;4 cm en diámetro</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>N: Nódulos linfáticos regionales</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>N0 Sin evidencia de invasión de nódulos regionales</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>N1 Evidencia histológica/citológica de invasión de nódulos regionales</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>N2 Nódulos mezclados</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>M: Metástasis distantes</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>M0 Sin evidencia de metástasis distantes</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>M1 Evidencia de metástasis distantes</td>
<td></td>
</tr>
</tbody>
</table>

Estadio I = T1 N0 M0  
Estadio II = T2 N0 M0  
Estadio III = T2 N1 M0 o T3 N0 M0  
Estadio IV = Cualquier T, cualquier N y M1

Modificada de Atherton & Morris (2016)

5.5.**Comportamiento biológico**

El comportamiento biológico es bastante variable por lo que para caracterizarlo se deben tener en cuenta parámetros como son el sitio anatómico por la malignidad asociada a tumores en dedos y mucosa oral (Lacroux et al., 2012; Meuten, 2002 y Withrow & MacEwen’s, 2009). También se
deben tener en cuenta factores como el estadio clínico junto con los parámetros histológicos para la determinación del comportamiento biológico (Bergman, 2007).

5.6. Diagnóstico

En humanos existe una amplia variedad de métodos diagnósticos que permiten la detección del melanoma como la dermatoscopia, que en muchos casos hace innecesaria la realización de la biopsia cutánea; también existen otros diversos métodos imagenológicos que se usan en humanos para realizar el diagnóstico de melanoma (Ferris & Harris, 2012), mientras que en animales se usan métodos convencionales como son la citología de una aspiración con aguja fina en el tumor, para hacer frotis y coloración de Wright (Withrow & MacEwen’s, 2009) o por medio de la biopsia para observar parámetros histológicos que permiten predecir generalmente el rango de supervivencia, rango metastásico, entre otras cosas (Bergman, 2007).

5.6.1. Histopatología: La determinación histológica permite dar el nombre definitivo del tumor según su malignidad; un melanocitoma se puede observar como melanocitos atípicos que pueden estar en pequeños nidos o células simples tumorales en la epidermis baja o en la vaina radicular externa del folículo piloso; estas células generalmente poseen en su interior grandes cantidades de melanina intracitoplasmática, que pueden ocultar la morfología del núcleo, además los melanocitomas dermales pueden ser poco celulares (Meuten, 2017). Se reconocen como benignas estas neoplasias ya que generalmente muestran un núcleo pequeño o pleomorfismo celular, con un bajo número de mitosis es decir 3 o menos figuras mitóticas por 10 campos de alto poder (Meuten, 2017).

El melanoma, es decir una neoplasia melanocítica maligna se diferencia ya que las células pueden encontrarse en las capas superiores de la epidermis, además se observan con grandes núcleos y nucléolos más visibles, y las mitosis serán un hallazgo más
frecuente incluso en algunos casos puede haber ulceración epidermal; estas células generalmente son más anaplásicas y pleomórficas, pueden contener mucha o poca melanina intracitoplasmática; (Meuten, 2017).

Generalmente las tinciones más usadas para la observación microscópica en esta neoplasia es la hematoxilina-eosina (Withrow & MacEwen’s, 2009) y para observar más fácilmente los gránulos de melanina se puede usar una tinción de Fontana-Masson que tiñe la melanina (Meuten, 2017).

En el melanoma canino se han descrito diversas características histopatológicas que son:

- **Melanoma “Junctional” o De La Unión:** Se refiere a la proliferación neoplásica de células melanocíticas en la interface entre la dermis y la epidermis (Figura 1) que con frecuencia se observa como pequeñas redes (Meuten, 2017 y Smith et al., 2002).

- **Melanoma Compuesto**: Indica neoplasias que contienen un componente dermal y también un componente epidermal (Meuten, 2017).

- **Melanoma Dermal**: Hace referencia a que es una neoplasia únicamente intradermal, sin componente epidermal (Meuten, 2017).

- **Lesión “Pagetoide”**: Este término proviene de las células de Paget que se usaba para describir células neoplásicas infiltrativas en el carcinoma ductal mamario, y en melanoma se usa para describir células individuales o pequeños agregados de células neoplásicas dentro de los niveles más altos de la epidermis o epitelio (Smith et al., 2002).

Además de esto, los melanomas pueden mostrar una gran variabilidad histológica en cuanto a la morfología celular, de las cuales se han descrito las siguientes:

- **Melanoma epiteliode**: Contiene células redondas con bordes discretos (Figura 2), abundante citoplasma “vidrioso” con un núcleo grande y nucléolo prominente, además pueden estar en pequeños grupos subdivididos por un fino estroma fibrovascular (Meuten, 2017 y Smith et al., 2002).
Figura 2 Melanoma canino de ginglya de células epitelioides. 40x, H&E. Fuente: Lab. Histopatología U. La Salle.

- **Melanoma de células fusiformes:** como su nombre lo indica, se caracteriza por la presencia de células fusiformes (Figura 3), que contienen gránulos intracitoplasmáticos de melanina (Meuten, 2017), están organizados en haces irregulares entrecruzados, es similar al fibrosarcoma o al neurofibrosarcoma porque tienden a tener núcleos grandes y nucléolos prominentes, además no exhiben comportamiento pagetoide (Smith et al., 2002).

- **Melanoma mixto**: Combina las características del melanoma de células fusiformes y epiteloides (Figura 4), (Smith et al., 2002)


- **Melanoma de células clara**: Constituido por grandes células redondas con abundante citoplasma granular eosinofílico; también es referido como melanoma
de células balón y ocurre en piel y cavidad oral del perro (Meuten, 2017 y Smith et al., 2002).

- **Melanoma dendrítico:** Este tipo solo ocurre en la piel, tiene características de células fusiformes organizadas en remolinos estrechos que asemejan con frecuencia a una huella dactilar, se asocian normalmente a tumores benignos (Smith et al., 2002).

**5.6.2. Grado histológico:** Al momento de realizar el diagnóstico, es necesario determinar el grado histológico de la neoplasia, ya que es una herramienta útil para predecir el comportamiento de la neoplasia y el pronóstico de la enfermedad (Spangler & Kass, 2006). Aunque hay muchos factores que se han relacionado con la malignidad, se ha determinado que los tumores orales con menos de 4 mitosis en 10 campos de alto poder, una atipia nuclear menor al 30% o una expresión menor al 19.5% del marcador Ki67 tienen un pronóstico más favorable que los que están por encima de estos mismos rangos, y en neoplasias cutáneas, aquellas con un índice mitótico menor a 3, atipia nuclear menor al 20%, o una expresión de Ki67 menor al 15% tienen un pronóstico más favorable que aquellas que están por encima de estos mismos rangos (Meuten, 2017).

**5.6.3. Histoquímica:** Esta herramienta consiste en la tinción de tejidos que ayudan a apreciar, diferenciar y reconocer las estructuras que componen cada órgano; en la mayoría de casos se busca que la tinción sea muy específica (que el compuesto químico logre teñir una estructura o molécula en específico), y que no altere la estructura del sistema biológico (Acuña & Elguero, 2012). En el caso de la inmunohistoquímica, actualmente es uno de los métodos más recurrentes en el diagnóstico y pronóstico de enfermedades neoplásicas, y consiste en el uso de inmunotinciones de cortes histopatológicos del
tumor para observar la presencia de proteínas específicas que expresa el tumor, para lo cual se usan anticuerpos monoclonales (Smedley et al., 2011; Sulaimon et al., 2002). Sin embargo, existen diversos protocolos descritos para la realización de este proceso que van a depender de diversos factores. Por ejemplo, en las tinciones citoplasmáticas se debe tener en cuenta que se pueden presentar falsos positivos como los debidos a la peroxidasa endógena, por lo que se hace necesario bloquear o neutralizar estos factores para la correcta evaluación (Vaquero, 2007).

5.7. Síndromes paraneoplásicos

Los síndromes paraneoplásicos en neoplasias melanocíticas son raros; en medicina humana se han descrito algunos como la dermatomiositis y el pénfigo vulgaris (Vyas, Selph & Gerstenblinth, 2016); mientras que, en medicina veterinaria, se reconoce la hipercalcemia maligna, es decir, un aumento del calcio sérico por acción del tumor, que además puede llevar a otras alteraciones relacionadas a esta (Bergman, 2012).

5.8. Tratamiento

El tratamiento de elección generalmente es la extirpación quirúrgica en estadios clínicos bajos (Bergman, 2007), en casos en que el tumor se presenta en el espacio interdigital puede ser necesaria la amputación del miembro afectado (Henry & Higginbotham, 2010) mientras que en melanoma uveal generalmente es necesaria la enucleación (Martens, 2007). La radioterapia también puede ser realizada en casos que la masa no sea completamente extirpada e involucra nódulos linfáticos; además han reportado ser efectiva en los casos de melanoma oral en caninos (Henry & Higginbotham, 2010), aunque es frecuente la recurrencia y/o metástasis (Bergman, 2007).
Los quimioterapéuticos más usados para tratar el melanoma son la cisplatina y la carboplatina para hacer más lenta la progresión local y la metástasis, además también se puede usar con la radioterapia o la cirugía (Henry & Higginbotham, 2010). Aunque se ha evidenciado que el melanoma es un tipo de tumor quimiorresistente (Bergman, 2007), estudios recientes han resaltado la inmunoterapia como alternativa para el tratamiento de diversos tipos de tumores; sin embargo, esta modalidad aún se encuentra en etapas experimentales (Atherton et al., 2016).

5.9. Pronóstico

En el caso de las neoplasias melanocíticas, el sitio del tumor juega un papel importante en el pronóstico, ya que como se ha hecho énfasis, los tumores que se encuentran en uniones mucocutáneas y entre los dedos, suelen ser de mal pronóstico, y en vista de que en muchos casos se usa únicamente la histopatología para establecer el comportamiento de la neoplasia (Bergman, 2007; Henry & Higginbotham, 2010), se hace necesario el uso de pruebas complementarias que ayuden a diferenciar el comportamiento benigno o maligno para el melanoma canino (Bergman, 2007).

Se ha encontrado que la expresión del Ki-67 en inmunohistoquímica tiene un valor predictivo del índice proliferativo del 97% mayor al de la histología clásica que fue del 91% para determinar el comportamiento del melanoma canino (Bergman, 2007). Algunos estudios como el de Cuitiño et al. (2012), han tratado de establecer la importancia de la angiogénesis de los tumores melanocíticos; sin embargo, esta tinción no diferencia vasos formados por el tumor de los que ya se encontraban presentes, y aunque los estudios han concluido que, en todos los casos, los tumores con mayor vascularización son más malignos, parece ser que, en este tipo de tumor, este factor no tiene una importancia pronóstica.

25
6. Metodología

6.1. Selección de los casos

Se revisaron las historias provenientes tanto de necropsias como de biopsias del Laboratorio de Histopatología de la Universidad de La Salle de caninos durante el periodo de 1995 a 2015 y se seleccionaron los casos diagnosticados ya sea como “Melanoma”, “Melanocitoma” o “Sospechosos de Melanoma”.

De estas historias se tomaron en cuenta los siguientes datos: raza, género, edad, localización del tumor (teniendo en cuenta aquellos que estaban en piel o en mucosa) y la localización específica si estaba reportada en la historia clínica para la cual se subdividieron para mucosa en encía, labio, lengua, paladar, otros (como faringe o tonsilas) y párpado; para los tumores de piel se dividieron en cabeza, cuello, tórax, abdomen, espalda, región perianal, miembros y dedos.

También se tomaron los datos de tamaño de la masa, el diagnóstico histopatológico y observaciones adicionales.

6.2. Histopatología

De cada caso se observaron las láminas correspondientes y de cada neoplasia se observó la morfología celular que presentó cada tumor, características histológicas como actividad “junctional” o lesión pagetoide (Meuten, 2017; Smith et al., 2002 y Spangler & Kass, 2006), y la cantidad de pigmento clasificándola en ausente (melanoma amelánico), escaso, moderado o severo (Lacroux et al., 2011 y Ramos-Vara et al., 2000).

Se tuvieron en cuenta como criterios de malignidad de los tumores en histopatología, el número de mitosis por 10 campos de alto poder, presencia de necrosis o células inflamatorias en el tumor, presencia de células neoplásicas en vasos sanguíneos, lesión Pagetoide (Meuten, 2017 y Spangler & Kass, 2006).
En algunas masas, se realizó una tinción tricrómica de Masson debido a que las neoplasias no presentaban pigmento y adicionalmente se observaron cómo masas de células fusiformes por lo que se establecieron como diagnósticos diferenciales (además de neoplasia melanocítica) fibrosarcoma y leiomiosarcoma, para lo cual esta tinción es útil para diferenciar el colágeno y músculo (Bacha & Bacha, 2012).

6.3. Inmunohistoquímica

En los casos cuyo diagnóstico fue “sospechoso de melanoma” se les realizó inmunohistoquímica usando el inmunomarcador S-100, este procedimiento se realizó de manera similar al descrito por Walker (2014), por medio de la recuperación de antígeno (Dako target retrieval solution ph 9) sobre las láminas de los tejidos a evaluar; se realizó un bloqueo de peroxidasa endógena (Dako REAL™ Peroxidase-Blocking Solution) y posteriormente se adicionó el anticuerpo (FLEX Polyclonal Rabbit Anti-S100) para adicionar el polímero (Dako EnVision+ Dual Link System) para fijar la reacción Antígeno-Anticuerpo; por último se agregó un sustrato cromogénico (Dako AEC Substrate-Chromogen) para revelar la localización de los anticuerpos y se realizó una contratinción con hematoxilina.

6.4. Análisis estadístico

Los datos de los casos fueron consignados en una tabla en Microsoft Excel® y se aplicó una estadística descriptiva paramétrica y no paramétrica. Se obtuvo a partir de esto, la frecuencia y porcentajes de: presentación por raza, edad, género y localización anatómica de los tumores, y así mismo se estimaron la frecuencia de presentación de características histopatológicas como la actividad “junctional”, y las lesiones pagetoides, y morfología celular de las neoplasias.
7. Resultados

De la selección se obtuvo un total de 81 casos de los cuales en uno de los caninos se presentaron simultáneamente 2 masas independientes, una confirmada como neoplasia melanocítica y la otra masa como sospechosa de melanoma, resultando en un total de 82 neoplasias. Adicionalmente, solo uno de los casos evaluados fue proveniente de necropsia de un animal que presentó un melanoma en la comisura labial y desarrolló metástasis en pulmón; todos los demás casos del estudio provienen de biopsias; sin embargo, se descartaron dos casos debido a que en el primero la muestra de la lámina era insuficiente para el estudio, y en el segundo, ya que no se encontraba disponible la lámina de histopatología. De las 80 masas restantes, 12 fueron “sospechosas de melanoma”, mientras que las otras 68 fueron confirmadas como neoplasias melanocíticas; 54 (79,4%) diagnosticadas como melanoma y 14 (20,6%) como melanocitoma.

De las 12 neoplasias cuyo diagnóstico fue “sospechoso de melanoma”, a 3 se les realizó tinción tricrómica de Masson y a las otras 9, inmunohistoquímica con el inmunomarcador S-100, usando 3 controles positivos de los casos diagnosticados como neoplasia melanocítica por la tinción de rutina (Hematoxilina-Eosina), y como control negativo un leiomiosarcoma, diagnosticado con la coloración tricrómica de Masson.

7.1. Género y edad

La presentación por género fue inequitativa, ya que se encontró que, en su mayoría las neoplasias melanocíticas se dieron en machos, con un total de 44 casos (64,71%) y 24 hembras (35,29%), obteniendo una proporción de machos y hembras de 1,83:1 de los 68 casos. El rango de edad se encontró entre 2 a 19 años en machos, mientras que en hembras fue de 4 a 14 años. No se encontró disponible la edad de 4 caninos 2 machos y 2 hembras (5,88%). La figura 5 representa la distribución de la presentación de los casos según grupos etarios entre machos y hembras.
según el diagnóstico histopatológico, la cual muestra que el pico de presentación fue de 7 a 12 años en la mayoría de las distribuciones.

**Figura 5** Distribución en porcentajes de la presentación de las neoplasias melanocíticas por grupos etarios. NR: No Reportado.

### 7.2. Raza

En la presentación en los 68 casos de neoplasias melanocíticas, se presentó un total de 20 razas diferentes y caninos criollos, de las cuales la más frecuente fue la de los caninos criollos con 10 casos (14,7%), seguidos de la raza Golden Retriever y Schnauzer con 8 casos cada una (11,8%), y Labrador Retriever y French Poodle con 6 casos cada uno (8,8%). Estas razas ocupan más del 50% del total de casos, a diferencia de otras razas como Bernés de la Montaña ó Shitzu cada uno con un caso, ocupando el 1,3%. En la Tabla 2 se observa un resumen de la distribución por razas según el diagnóstico histopatológico.

Adicionalmente de las 4 principales razas (Golden Retriever, Schnauzer, Labrador Retriever y French Poodle) se determinó la distribución por lesiones según la localización, esto se puede observar en la figura 6.
**Tabla 2**: Frecuencia de los caninos que presentaron neoplasia melanocítica según la raza.

<table>
<thead>
<tr>
<th>Raza</th>
<th>Melanoma</th>
<th>Melanocitoma</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td></td>
<td>Cantidad</td>
<td>%</td>
</tr>
<tr>
<td>Criollo</td>
<td>8</td>
<td>14,8</td>
</tr>
<tr>
<td>Golden Retriever</td>
<td>6</td>
<td>11,1</td>
</tr>
<tr>
<td>Schnauzer</td>
<td>4</td>
<td>7,4</td>
</tr>
<tr>
<td>Labrador Retriever</td>
<td>6</td>
<td>11,1</td>
</tr>
<tr>
<td>French Poodle</td>
<td>5</td>
<td>9,3</td>
</tr>
<tr>
<td>Rottweiler</td>
<td>4</td>
<td>7,4</td>
</tr>
<tr>
<td>Shar Pei</td>
<td>3</td>
<td>5,6</td>
</tr>
<tr>
<td>Doberman</td>
<td>3</td>
<td>5,6</td>
</tr>
<tr>
<td>Chow Chow</td>
<td>3</td>
<td>5,6</td>
</tr>
<tr>
<td>Boxer</td>
<td>2</td>
<td>3,7</td>
</tr>
<tr>
<td>Pastor alemán</td>
<td>1</td>
<td>1,9</td>
</tr>
<tr>
<td>Pincher</td>
<td>2</td>
<td>3,7</td>
</tr>
<tr>
<td>Otros</td>
<td>7</td>
<td>13,0</td>
</tr>
<tr>
<td><strong>Total</strong></td>
<td><strong>54</strong></td>
<td><strong>100</strong></td>
</tr>
</tbody>
</table>

**Figura 6**: Distribución de la localización de la neoplasia por raza.
7.3. Localización

De los 68 casos, en la mayoría la neoplasia se encontraba localizada en piel, representando el 58,82% (40 casos), mientras que los casos en mucosa correspondieron a 41,18% (28 casos) de los cuales 14,7% (10 casos) se presentó en párpado y los 18 restantes (24,47%) corresponden a mucosa oral (Tabla 3).

En cuanto a los pacientes que presentaron las neoplasias en piel, el sitio de presentación más común fue en el abdomen con 7 casos (21,88%) seguido de los dedos con 6 casos (21,43%); en 4 casos no se encontró disponible la localización específica de la masa y también se presentaron 6 casos en que se encontraron más de una masa. De los casos de mucosa oral la presentación más frecuente fue en la gíngiva, con 7 casos (38,89%) seguida del labio con 4 casos (22,22%); no se reportó el sitio de la masa en 4 casos, y en uno de los casos se encontró más de una masa en la cavidad oral. Los datos de la “localización específica” de las neoplasias en piel y mucosa según el diagnóstico histopatológico se encuentran resumidos en la tabla 4.

<table>
<thead>
<tr>
<th>Tabla 3: Distribución de la localización de las masas.</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>Localización</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>Piel</td>
</tr>
<tr>
<td>Mucosa</td>
</tr>
<tr>
<td>Total</td>
</tr>
</tbody>
</table>
**Tabla 4:** Distribución de la localización de las masas de piel y mucosa.

<table>
<thead>
<tr>
<th>Localización del tumor</th>
<th>Localización específica</th>
<th>Melanoma</th>
<th>Melanocitoma</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td></td>
<td></td>
<td>Cantidad</td>
<td>%</td>
</tr>
<tr>
<td>Piel</td>
<td>Miembro</td>
<td>2</td>
<td>7,14</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>Abdomen</td>
<td>7</td>
<td>25,00</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>Tórax</td>
<td>2</td>
<td>7,14</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>Varios</td>
<td>4</td>
<td>14,29</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>Cuello</td>
<td>3</td>
<td>10,71</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>NR</td>
<td>2</td>
<td>7,14</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>Cabeza</td>
<td>0</td>
<td>0,00</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>Perianal</td>
<td>2</td>
<td>7,14</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>Espalda</td>
<td>0</td>
<td>0,00</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>Dedo</td>
<td>6</td>
<td>21,43</td>
</tr>
<tr>
<td>Mucosa</td>
<td>Párpado</td>
<td>8</td>
<td>30,77</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>Gingiva</td>
<td>7</td>
<td>26,92</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>Mucosa oral-NR</td>
<td>4</td>
<td>15,38</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>Labio</td>
<td>4</td>
<td>15,38</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>Paladar</td>
<td>1</td>
<td>3,85</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>Lengua</td>
<td>1</td>
<td>3,85</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>Varios</td>
<td>1</td>
<td>3,85</td>
</tr>
</tbody>
</table>

NR: No reportado.

**7.4. Tamaño de las masas**

De estas 68 masas encontradas, se obtuvo el reporte de 41 masas, mientras que las otras 27 no fue especificada esta información. En la tabla 5 se observa la distribución por tamaño de las neoplasias según el diagnóstico histopatológico; La medida de las masas fue clasificada en 3 grupos que fueron: masas pequeñas (menores a 2 cm), medianas (de 2 a 4 cm) y grandes (mayores a 4 cm). El rango en piel estuvo comprendido desde masas de 0,5 cm hasta 7 cm de diámetro; mientras que en mucosas fue desde 0,2 cm hasta 15 cm de diámetro (Figura 7).
Tabla 5: Distribución del tamaño de las neoplasias por diagnóstico histopatológico.

<table>
<thead>
<tr>
<th>TAMAÑO</th>
<th>Melanoma</th>
<th>Melanocitoma</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td></td>
<td>Cantidad</td>
<td>%</td>
</tr>
<tr>
<td>Pequeñas</td>
<td>13</td>
<td>48,15</td>
</tr>
<tr>
<td>Medianas</td>
<td>11</td>
<td>40,74</td>
</tr>
<tr>
<td>Grandes</td>
<td>3</td>
<td>11,11</td>
</tr>
<tr>
<td>TOTAL</td>
<td>27</td>
<td>100</td>
</tr>
</tbody>
</table>

Pequeñas: menores a 2 cm. Medianas: de 2 a 4 cm. Grandes: mayores a 4 cm.

Figura 7 Distribución en porcentajes del tamaño de las neoplasias por localización. Pequeñas: menores a 2 cm. Medianas: de 2 a 4 cm. Grandes: mayores a 4 cm.

7.5. Características microscópicas

En la morfología celular, se encontró una cantidad similar de cada una de las clasificadas. Se observaron 18 casos de células epitelioides (26,47%), 24 casos de fusiformes (35,29%) y 26 de presentación mixta (38,24%), es decir que mostraron patrón tanto fusiforme como epiteliode (Figura 8).
Figura 8 Distribución en porcentajes de la morfología celular.

La cantidad de pigmento en las neoplasias fue equitativa entre los tumores que presentaban pigmento escaso y severo (Figura 9 y 11 respectivamente) ya que para estas se obtuvieron 23 casos (35,38%) de cada uno, mientras que los tumores de pigmento moderado (Figura 10) fueron 19 (29.23%). La cantidad de pigmento en neoplasias de piel fue comparada con la encontrada por otros autores (Tabla 6).

Figura 10 Melanoma cutáneo canino. Se observa como el pigmento cubre varias porciones de la neoplasia, pero con varias zonas igualmente libres de pigmento. 40x, H&E. Fuente: Lab. Histopatología U. La Salle.

Figura 11 Melanoma canino en parpado. Nótese la gran cantidad de pigmento que cubre todo el citoplasma celular. 10x, H&E. Fuente: Lab. Histopatología U. La Salle.
El índice mitótico fue determinado en 58 neoplasias de las 68 usadas en el estudio, esto fue debido a que en 10 (12,5%) la cantidad de pigmento de melanina ocultaba la morfología nuclear dificultando la visualización de las células e impidiendo la observación de figuras mitóticas. En las 58 casos en los que se realizó el conteo de mitosis en 10 campos de alto poder, se encontró que, en 30 neoplasias (51,72%) se observaron de 0 a 3 mitosis, mientras que mayor a 4 mitosis en 28 masas (48,28%). En la tabla 7 se observa la distribución de la cantidad de mitosis encontrada en piel y mucosa.

Tabla 6: Cantidad de pigmento en piel (%) de la literatura previa y el presente estudio.

<table>
<thead>
<tr>
<th></th>
<th></th>
<th></th>
<th></th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>+</td>
<td>35,38%</td>
<td>46%</td>
<td>24,50%</td>
</tr>
<tr>
<td>++</td>
<td>29,23%</td>
<td>14%</td>
<td>19,50%</td>
</tr>
<tr>
<td>+++</td>
<td>35,38%</td>
<td>35%</td>
<td>30%</td>
</tr>
</tbody>
</table>

-: Ausente; +: Escaso; ++: Moderado; +++: Severo

Tabla 7: Distribución de las masas según el índice mitótico.

<table>
<thead>
<tr>
<th># MITOSIS</th>
<th>Piel CANTIDAD</th>
<th>%</th>
<th>Mucosa CANTIDAD</th>
<th>%</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>0</td>
<td>12</td>
<td>38,71</td>
<td>8</td>
<td>29,63</td>
</tr>
<tr>
<td>1-10</td>
<td>10</td>
<td>32,26</td>
<td>10</td>
<td>37,04</td>
</tr>
<tr>
<td>11-30</td>
<td>8</td>
<td>25,81</td>
<td>4</td>
<td>14,81</td>
</tr>
<tr>
<td>31-50</td>
<td>1</td>
<td>3,23</td>
<td>3</td>
<td>11,11</td>
</tr>
<tr>
<td>51-70</td>
<td>0</td>
<td>0,00</td>
<td>0</td>
<td>0,00</td>
</tr>
<tr>
<td>71-90</td>
<td>0</td>
<td>0,00</td>
<td>1</td>
<td>3,70</td>
</tr>
<tr>
<td>&gt;91</td>
<td>0</td>
<td>0,00</td>
<td>1</td>
<td>3,70</td>
</tr>
<tr>
<td>TOTAL</td>
<td>31</td>
<td>100</td>
<td>27</td>
<td>100</td>
</tr>
</tbody>
</table>

Sacado a partir del conteo de mitosis en 10 campos de alto poder

Cabe destacar que en el total de los casos en que la morfología nuclear era fácilmente evaluable, todas las neoplasias presentaban algún grado de pleomorfismo nuclear; sin embargo, en algunas, esta característica era más marcada que en otras, pero esta distinción no fue clasificada.
Adicionalmente, el infiltrado inflamatorio (Figura 12), en las 68 neoplasias, fue ausente en 26 casos (55,32%), escaso en 18 (38,30%), moderado en 2 (4,26%), y severo en 1 (2,13%). En 12 masas (17,65%) se encontró presencia de células neoplásicas en vasos sanguíneos y fue ausente en el resto de los casos. Se pudo observar actividad “junctional” en 47 casos (58,75%) incluyendo uno que evidenció actividad “junctional” y lesión pagetoide simultáneamente.

Figura 12 Melanoma cutáneo canino. Dentro de la neoplasia se observa una gran cantidad de linfocitos infiltrados. 40x, H&E. Fuente: Lab. Histopatología U. La Salle.

En las tablas 8 y 9 se puede observar un resumen comparativo de los resultados obtenidos según la localización de las masas en piel y en mucosas respectivamente, donde se puede observar que tanto en las masas de cavidad oral y dedo, tienen los mayores promedios de índice mitótico.
**Tabla 8:** Relación de diversos criterios histopatológicos según la localización específica de masas en piel.

<table>
<thead>
<tr>
<th>LOCALIZACIÓN</th>
<th>Abdomen</th>
<th>Dedo</th>
<th>Tórax</th>
<th>Cuello</th>
<th>Miembro</th>
<th>Cabeza</th>
<th>Perianal</th>
<th>Espalda</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td></td>
<td>No.</td>
<td>%</td>
<td>No.</td>
<td>%</td>
<td>No.</td>
<td>%</td>
<td>No.</td>
<td>%</td>
</tr>
<tr>
<td>PROMEDIO IM</td>
<td>9,80</td>
<td>-</td>
<td>17,80</td>
<td>-</td>
<td>1,40</td>
<td>-</td>
<td>9,00</td>
<td>-</td>
</tr>
<tr>
<td>INFILTRADO VASCULAR</td>
<td>1</td>
<td>14,29</td>
<td>1</td>
<td>16,67</td>
<td>0</td>
<td>0,00</td>
<td>1</td>
<td>25</td>
</tr>
<tr>
<td>INFILTRADO INFLAMATORIO</td>
<td>-</td>
<td>3</td>
<td>42,86</td>
<td>3</td>
<td>50,00</td>
<td>2</td>
<td>40,00</td>
<td>0</td>
</tr>
<tr>
<td>++</td>
<td>1</td>
<td>14,29</td>
<td>0</td>
<td>0,00</td>
<td>2</td>
<td>40,00</td>
<td>1</td>
<td>25</td>
</tr>
<tr>
<td>+++</td>
<td>2</td>
<td>28,57</td>
<td>2</td>
<td>33,33</td>
<td>0</td>
<td>0,00</td>
<td>1</td>
<td>25</td>
</tr>
<tr>
<td>INFILTRADO INFLAMATORIO Epitelioide</td>
<td>3</td>
<td>42,86</td>
<td>2</td>
<td>33,33</td>
<td>0</td>
<td>0,00</td>
<td>1</td>
<td>25</td>
</tr>
<tr>
<td>Fusiforme</td>
<td>3</td>
<td>42,86</td>
<td>0</td>
<td>0,00</td>
<td>4</td>
<td>80,00</td>
<td>1</td>
<td>25</td>
</tr>
<tr>
<td>Mixta</td>
<td>1</td>
<td>14,29</td>
<td>4</td>
<td>66,67</td>
<td>1</td>
<td>20,00</td>
<td>2</td>
<td>50</td>
</tr>
<tr>
<td>FORMA CELULAR ACTIVIDAD JUNCTIONAL</td>
<td>5</td>
<td>71,43</td>
<td>5</td>
<td>83,33</td>
<td>3</td>
<td>60,00</td>
<td>1</td>
<td>25</td>
</tr>
<tr>
<td>PRESENCIA DE ULCERA</td>
<td>2</td>
<td>28,57</td>
<td>2</td>
<td>33,33</td>
<td>2</td>
<td>40,00</td>
<td>1</td>
<td>25</td>
</tr>
</tbody>
</table>

Índice mitótico resultado del conteo de mitosis en 10 campos de alto poder a 40x. -: Ausente; +: Escaso; ++: Moderado; +++: Severo.

**Tabla 9:** Relación de diversos criterios histopatológicos según la localización específica de masas en mucosa.

<table>
<thead>
<tr>
<th>LOCALIZACIÓN</th>
<th>Párpado</th>
<th>Gingiva</th>
<th>Labio</th>
<th>Paladar</th>
<th>Lengua</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td></td>
<td>No.</td>
<td>%</td>
<td>No.</td>
<td>%</td>
<td>No.</td>
</tr>
<tr>
<td>PROMEDIO IM</td>
<td>3,00</td>
<td>-</td>
<td>15,71</td>
<td>-</td>
<td>32,67</td>
</tr>
<tr>
<td>INFILTRADO VASCULAR</td>
<td>1</td>
<td>10,00</td>
<td>1</td>
<td>14,29</td>
<td>2</td>
</tr>
<tr>
<td>INFILTRADO INFLAMATORIO</td>
<td>-</td>
<td>4</td>
<td>40,00</td>
<td>2</td>
<td>28,57</td>
</tr>
<tr>
<td>++</td>
<td>5</td>
<td>50,00</td>
<td>1</td>
<td>14,29</td>
<td>1</td>
</tr>
<tr>
<td>+++</td>
<td>1</td>
<td>10,00</td>
<td>2</td>
<td>28,57</td>
<td>2</td>
</tr>
<tr>
<td>INFILTRADO INFLAMATORIO Epitelioide</td>
<td>2</td>
<td>20,00</td>
<td>2</td>
<td>28,57</td>
<td>0</td>
</tr>
<tr>
<td>Fusiforme</td>
<td>2</td>
<td>20,00</td>
<td>1</td>
<td>14,29</td>
<td>3</td>
</tr>
<tr>
<td>Mixta</td>
<td>6</td>
<td>60,00</td>
<td>4</td>
<td>57,14</td>
<td>1</td>
</tr>
<tr>
<td>FORMA CELULAR ACTIVIDAD JUNCTIONAL</td>
<td>8</td>
<td>80,00</td>
<td>6</td>
<td>85,71</td>
<td>2</td>
</tr>
<tr>
<td>PRESENCIA DE ULCERA</td>
<td>0</td>
<td>0,00</td>
<td>4</td>
<td>57,14</td>
<td>2</td>
</tr>
</tbody>
</table>

Índice mitótico sacado a partir del conteo de mitosis en 10 campos de alto poder a 40x. -: Ausente; +: Escaso; ++: Moderado; +++: Severo.
7.6. Inmunohistoquímica

 Debido a la falta de pigmento en 12 de los casos, su diagnóstico fue “sospechosos de melanoma”, por lo cual a 3 de éstos se les practicó tinción tricrómica de Masson con lo cual se obtuvo el diagnóstico de leiomiosarcoma de uno y de fibrosarcoma de los otros dos; a los 9 restantes, se les realizó inmunohistoquímica con el marcador S-100, se tuvieron 3 controles positivos de los casos diagnosticados como neoplasia melanocítica por H&E, y como control negativo se usó la masa que fue determinada como leiomiosarcoma por tinción tricrómica de Masson. Al evaluar los resultados se encontró positivo a S-100 solo uno de los 9 casos (Figura 13), y las otros 8 se determinaron negativos con este inmunomarcador.

**Figura 13** Melanoma cutáneo canino. Lamina de inmunohistoquímica positiva al marcador S100. 10x.

8. Discusión de resultados

En la literatura se han descrito ampliamente las neoplasias melanocíticas y sus diversas características tanto clínicas como histopatológicas; sin embargo, los resultados varían en los diferentes trabajos. En varias de las investigaciones se ha demostrado que la presentación de las neoplasias melanocíticas puede tener una predisposición por género, como se ha observado en el presente trabajo donde existe una proporción mayor de machos sobre hembras, aunque en trabajos como el de Koenig, Wojcieszyn, Weeks y Modiano (2001) se encontró una presentación en machos del 51,85%; similar a otros trabajos como el de Millanta et al. (2002), incluso en Latinoamérica en el trabajo realizado por Camargo, Conceição y Costa (2008) o más recientemente en el trabajo de Lacroux et al. (2011) en el cual, los machos caninos ocuparon el 52% de los casos. Un trabajo que ha contrastado con estos resultados fue el realizado por Ramos-Vara et al (2000) donde la proporción de hembras fue mayor que la de machos. A pesar de esto, se ha descrito que en neoplasias melanocíticas, se puede llegar a encontrar una proporción de 2:1, e incluso de 3:1 de machos y hembras (Smith et al., 2002); sin embargo, la causa de esta disparidad en la distribución del género no ha sido explicada; aun así, se ha evidenciado que el género carece de importancia en el comportamiento y el pronóstico de la enfermedad (Spangler & Kass, 2006). La relación con la edad en el presente estudio fue similar a la reportada en diversos estudios (Camargo et al., 2008; Koenig et al., 2001; Lacroux, 2011 y Ramos-Vara et al., 2000), concordando en la mayoría de los casos que el pico de incidencia de presentación de la enfermedad se da entre los 7 a 12 años (Meuten, 2017).

El Golden Retriever y el Schnauzer que fueron las razas más frecuentes en este estudio, han sido reportadas que poseen un riesgo aumentado de presentar esta neoplasia al igual que y el Labrador Retriever y el French Poodle; sin embargo, la frecuencia de presentación de razas como el Chow
Chow o el Pastor Alemán fue baja en comparación con otros estudios y lo reportado en la literatura (Camargo et al., 2008; Dobson, 2012; Meuten, 2017 y Ramos-Vara et al., 2000).

Adicionalmente, también se ha mencionado que razas como el Schnauzer tienen un riesgo mayor de desarrollar esta neoplasia en piel, mientras que razas como el Golden Retriever en cavidad oral, principalmente en el labio, similar a lo obtenido en el presente estudio (Smith et al., 2002).

En neoplasias melanocíticas, debido a la importancia que posee la localización de la masa en relación con la malignidad, se debe señalar el sitio de origen de la neoplasia, y en los resultados obtenidos en el presente estudio, al igual que en los obtenidos por Spangler & Kass (2006), la mayoría de las masas fueron encontradas en piel, pero en dicho estudio las neoplasias encontradas en cavidad oral, tuvieron el mismo porcentaje que las encontradas en labios y dedos a diferencia de lo encontrado en este trabajo; incluso en el estudio de Lacroux et al. (2011), los tumores de dedos tuvieron el mayor porcentaje del estudio; pero para la localización específica de las masas en mucosa oral, al igual que lo reportado en diversos estudios, fue más frecuente en la gíngiva y menos frecuente en sitios como la lengua, o incluso sitios como la faringe que no fue encontrada en este estudio (Ramos-Vara et al., 2000 y Spangler & Kass, 2006); y de las masas de piel a diferencia de otros reportes donde las localizaciones más comunes son sitios de la cabeza (Camargo et al., 2008; Lacroux et al., 2011 y Meuten, 2017) en este estudio predominaron las masas de abdomen y tórax. A pesar de que en este estudio no se encontraron neoplasias melanocíticas en ojo, la literatura menciona que puede ser una neoplasia frecuente en este órgano y se ha reportado su presencia en diversos trabajos, aunque no es tan frecuente como en otros sitios anatómicos (Martens, 2007; Spangler & Kass, 2006).

El tamaño de la masa puede ser bastante variable, y este es un factor de gran importancia ya que influye en el estadio clínico de la enfermedad, aunque en la mayoría de los casos, las masas no
superaban los dos centímetros de diámetro al igual que en el estudio de Lacroux et al. (2011) y Ramos-Vara et al. (2000). El diámetro de la neoplasia se ha asociado con la malignidad, al igual que la localización (Spangler & Kass, 2006), por lo que es importante el diagnóstico de la enfermedad en estadios tempranos para que el tratamiento tenga mayor probabilidad de ser efectivo. En humanos, el diámetro de la lesión primaria repercute drásticamente en el pronóstico de la enfermedad ya que un tumor <1 mm se asocia con una alta tasa de curación bruscamente contrastando con el pobre pronóstico de lesiones más grandes (Quatresooz, Reginster & Piérard, 2011).

La morfología celular de las neoplasias melanocíticas encontradas, tanto en este estudio como lo reportado en otros trabajos, ha sido bastante variable ya que algunos de estos muestran que en las neoplasias melanocíticas en cavidad oral hay predominio de células epitelioides (Millanta et al, 2002 y Spangler & Kass, 2006), mientras que en otros estudios, se ha observado una mayoría de casos de células fusiformes frente a las epitelioides (Ramos-Vara et al., 2000); pero de igual forma en piel se ha observado predominio de un patrón mixto (Lacroux et al., 2011) como epitelióide (Spangler & Kass, 2006), e incluso distribución equitativa de patrón mixto, epitelióide y fusiforme (Millanta et al., 2002).

El pigmento es un hallazgo frecuente en las neoplasias melanocíticas; sin embargo, no está presente en todos los casos, e incluso se puede presentar en ciertas zonas mientras que en otras puede no ser evidente (Meuten, 2017). Sin embargo, en los casos en que la cantidad de melanina logra ocultar la morfología nuclear y dificulte la observación de las células, es recomendable realizar un proceso de blanqueamiento de rutina que puede realizarse con permanganato de potasio (KMnO₄), sumergiendo los bloques de las masas en una solución de KMnO₄ al 0.25% durante 30 minutos a temperatura ambiente, seguido de un lavado con agua corriente y una
inmersión en ácido oxálico al 5% por 2 a 5 minutos o hasta que la sección se torne incolora para realizar un lavado final con un tampón salino tris (Sulaimon et al., 2002). El pigmento no ha mostrado ser un factor relevante en el comportamiento de la enfermedad, además de que su presencia variable ha sido diferente entre los diversos reportes (Tabla 6).

Por otro lado, el índice mitótico es la característica más importante para determinar el comportamiento de la neoplasia debido a que representa la proliferación de las células, además de que ha sido usado en diversos trabajos, en conjunto con otras características para determinar la malignidad (Camargo et al., 2008; Lacroux et al., 2011; Meuten, 2017; Ramos-Vara et al., 2000 y Spangler & Kass, 2006); esto se debe a que ningún parámetro es 100% efectivo para predecir el resultado de cualquier neoplasia específica (Spangler & Kass, 2006). Aparte del índice mitótico, en cada estudio se tienen en cuenta otros parámetros como el pleomorfismo celular y/o nuclear siendo benigno la ausencia de esta característica o su presencia de manera discreta y maligno la intensa presencia de esta anomalía (Camargo et al., 2008) o la presencia de inflamación o invasión vascular, ulceraciones (Lacroux et al., 2012), presencia de melanocitos bizarros o agrandados, núcleo prominente (Millanta et al., 2002). Uno de los trabajos más completos realizado por Spangler & Kass (2006), en el cual se realizó un estudio de diversos criterios de malignidad en relación al curso de la enfermedad y la supervivencia de los animales, se determinó que el índice mitótico es el parámetro más confiable en relación a la malignidad, y otras características como la profundidad de la inflamación, necrosis intralesional, el volumen del tumor, y la presencia de metástasis o recurrencia a pesar de relacionarse con la malignidad no son tan específicos. En comparación con el estudio de Ramos-Vara et al. (2000) los resultados de este trabajo no fueron muy diferentes ya que en la mayoría de masas analizadas se encontraban con un conteo bajo de mitosis, es decir, aquellas que tenían un conteo de 0 y de 1 a
10 mitosis en 10 campos de alto poder. Cabe destacar que en las masas con mayor conteo de
mitosis correspondían a los sitios anatómicos considerados como malignos en la presentación de
la neoplasia, ya que como se puede observar en las tablas 8 y 9, los mayores promedios se dieron
en cavidad oral y dedo, concordando con lo establecido en la literatura que las masas que en piel
se puede observar un comportamiento generalmente benigno de estas neoplasias, mientras que
las masas de cavidad oral y dedos suelen tener un comportamiento maligno cursando con
recidivas luego de la extracción quirúrgica, metástasis o muerte del animal (Lacroux et al., 2011;
La presencia de células neoplásicas en vasos sanguíneos en algunos trabajos no ha sido un
hallazgo frecuente (Ramos-Vara et al., 2000) pero también está relacionado con malignidad de
las neoplasias (Spangler & Kass, 2006). Estas micrometástasis (Figura 10) en el melanoma han
sido ampliamente estudiadas en humanos, determinando que esta neoplasia parece ser capaz de
formar metástasis si tiene información genotípica y fenotípica para emigrar efectivamente de la
matriz extracelular, intravasar, extravasar y atravesar la membrana basal intersticial y proliferar
en tejidos distantes; ese fenómeno se ha denominado “cascada metastásica del melanoma” que
en el orden de eventos se da por una hiperproliferación, desapego de la neoplasia primaria,
invasión dentro del estroma peritumoral y posiblemente penetración dentro de vasos sanguíneos
y linfáticos, supervivencia en la circulación, adhesión a la pared del vaso en el sitio de la
deposición metastásica final, extravasación y proliferación (Quatresooz et al., 2011).

Debido a que el melanoma puede no presentar pigmento, puede ser fácilmente confundido con un sarcoma de tejidos blandos, por lo que las tinciones especiales como la tricrómica de Masson, son importantes para establecer el diagnóstico (Meuten, 2017). Por esta razón la inmunohistoquímica ha tomado gran relevancia en el diagnóstico tanto de melanoma como de otras neoplasias; y el marcador S-100 que es una isoforma de la proteína de unión de calcio específica de células neuroectodermicas (Cuitiño, 2011; Koenig et al., 2001) se ha usado ampliamente en el diagnóstico de neoplasias melanocíticas; sin embargo, el S-100 no tiene ningún valor pronóstico (Koenig et al., 2001). El S100 en un estudio realizado por Smedley et al. (2011) mostró tener una especificidad del 20% y una sensibilidad del 81,6% a diferencia de marcadores como el PNL2 que mostró una sensibilidad del 89, 8% y especificidad del 100%; esto se debe a que el marcador S100 no es completamente específico de células melanocíticas y puede ser observado en células gliales, neuronas, células de Schwann, células de Langerhans, incluso macrófagos, mioepitelio y condrocitos (Ramos-Vara 2000).
9. Conclusiones

A partir de este estudio se pudo observar que en Colombia, las neoplasias melanocíticas pueden ser relativamente más frecuentes en machos que en hembras, aunque no se ha asociado una causa de esto, y el género no se relaciona con el pronóstico de la enfermedad. Al igual que lo reportado en la literatura, el pico de la enfermedad se da durante los 7 a 12 años, y las razas aparentemente más comunes son Golden Retriever, Schnauzer, Labrador Retriever y French Poodle. Aunque la literatura muestra como más comunes las masas de piel en cabeza, en este estudio fueron más comunes las masas de abdomen y tórax; aunque en cavidad oral si se observó cómo más frecuente la presentación en la gíngiva. Las neoplasias de cavidad oral y dedos evidencian comportamientos más malignos que en otros sitios anatométricos de la misma forma en que se reporta en la literatura científica; sin embargo, este comportamiento debe ser corroborado con el curso clínico de la enfermedad para realizar la correspondiente correlación. Por último, el inmunomarcador S100, parece ser útil para el diagnóstico de melanoma, aunque se deberían realizar otros estudios de control para determinar la sensibilidad y especificidad del mismo.
10. Referencias Bibliográficas


