

# UNIVERSIDAD PRIVADA ANTENOR ORREGO

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



**DIAGNÓSTICO CITOLÓGICO DE CÉLULAS REDONDAS NEOPLÁSICAS  
DE PIEL Y TEJIDO SUBCUTÁNEO EN *Canis familiaris* MEDIANTE  
PUNCIÓN Y ASPIRACIÓN CON AGUJA FINA (PAAF) Y TINCIÓN WRIGHT**

Tesis para optar el título de:

**MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**RODRIGO EDUARDO ROMERO RODRIGUEZ**

**TRUJILLO, PERÚ**

**2016**

La presente tesis ha sido revisada y aprobada por el siguiente jurado:

.....  
M.V.Mg. Roberto Briones Cabello

PRESIDENTE

.....  
M.V.Mg. Vilma Guerrero Díaz

SECRETARIO

.....  
M.V.Mg. Angélica Lozano Castro

VOCAL

.....  
M.V.Mg. Francisco Carvajal Mestanza

ASESOR

## **DEDICATORIA**

A Dios, por haberme permitido llegar a este punto y haberme dado salud para lograr mis objetivos, además de su infinita bondad y amor.

A mis padres, por haberme apoyado en todo momento, por sus consejos, sus valores, por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien, pero más que nada, por su inmenso amor.

A mis hermanas y mi pareja, por los ejemplos de perseverancia y constancia que las caracterizan y que me han infundado siempre, por el valor mostrado para salir adelante y por el inmenso amor incondicional que siempre me brindan.

A mi asesor y amigo, por su gran apoyo y motivación para la culminación y elaboración de esta tesis, por su paciencia y por sus experiencias compartidas como profesional y por impulsar mi desarrollo profesional.

A los amigos, que me apoyaron durante mi formación profesional y que me acogieron como parte de sus familias.

## **AGRADECIMIENTO**

A mi escuela profesional, a mis maestros, que aportaron mucho en mi formación profesional, en especial al Dr. Francisco Carvajal Mestanza, por su visión crítica de muchos aspectos cotidianos de la vida, por su honestidad en su profesión como docente, por sus consejos que ayudaron a formarme como persona e investigador.

A mis padres, Gumercindo Romero y Rosa Rodriguez, por apoyarme en todo momento, por darme la oportunidad de tener una excelente educación en el transcurso de mi vida y sobre todo por ser un excelente ejemplo de vida a seguir.

A mis hermanas: Rosa Liz, Raquel y Rocío, por ser ejemplos de desarrollo profesional, por el apoyo constante, por sus consejos y críticas constructivas, para lograr ser un buen profesional.

A Vanessa Rodríguez Lulimache, por darme cariño y fuerzas para poder luchar lejos de mi familia; a sus padres, la Sra. Julia Lulimache, Sr. Carlos Rodríguez, por ser como mis padres; a mi Tía Teresa Ríos Zavaleta que siempre creyó en mí.

A mi jurado, los Médicos Veterinarios: Roberto Briones, Vilma Guerrero y Angélica Lozano, por su tiempo prestado para la conclusión de esta tesis y su apoyo en todo el transcurso de mi carrera profesional.

## ÍNDICE GENERAL

	Páginas
Caratula .....	i
Aprobación del jurado de tesis .....	i
Dedicatoria .....	iii
Agradecimiento.....	iv
Índice .....	v
Índice de cuadros .....	vii
Índice de anexos.....	viii
Resumen .....	ix
Summary .....	x
I. INTRODUCCIÓN .....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	2
2.1. Carcinogénesis .....	3
2.2. Invasión y metástasis.....	5
2.3. Diagnóstico citológico de neoplasia en células redondas .....	8
2.3.1 Muestras Citológicas.....	9
2.3.2 Técnicas de recolección.....	9
2.4. Elaboración del frotis .....	10
2.5. Método de fijación.....	11
2.6. Tinción de Wright.....	12
2.7. Interpretación.....	13
2.8. Criterios de malignidad .....	15
2.8.1. Criterios generales de células neoplásicas.....	16

2.8.2. Criterios nucleares .....	16
2.8.3. Criterios citoplasmáticos .....	19
2.9. Neoplasias de células redondas .....	20
2.9.1. Linfoma .....	21
2.9.2. Mastocitoma.....	23
2.9.3. Tumor venéreo transmisible (TVT) .....	25
2.9.4. Tumor de células plasmáticas (plasmocitoma) .....	28
2.9.5. Histiocitoma .....	29
III. MATERIALES Y MÉTODOS .....	31
3.1. Lugar de investigación .....	31
3.2. Animales en estudio.....	31
3.3. Metodología para la citología .....	31
3.4. Clasificación de resultados .....	33
3.5. Análisis estadísticos.....	33
IV. RESULTADOS .....	35
V. DISCUSIÓN .....	41
VI. CONCLUSIONES.....	46
VII. RECOMENDACIONES .....	47
VIII. BIBLIOGRAFÍA .....	48
IX. ANEXOS .....	51

**ÍNDICE DE CUADROS**

	Páginas
Cuadro 1	Número de muestras obtenidas de piel y tejidos subcutáneos.....35
Cuadro 2	Pacientes con neoplasias en piel y tejidos subcutáneos según su sexo.....36
Cuadro 3	Clasificación de neoplasias de células redondas en piel y tejidos subcutáneos en <i>Canis familiaris</i> .....37
Cuadro 4	Clasificación de los pacientes según su edad con presencia de neoplasias de células redondas en piel y tejidos subcutáneos.....38
Cuadro 5	Pacientes según su raza con presencia de neoplasias de células redondas en piel y tejidos subcutáneos.....39
Cuadro 6	Resultados de criterios de malignidad.....40

## ÍNDICE DE ANEXOS

	Páginas
Anexo 1 Ficha clínica del paciente.....	52
Anexo 2 Patrón de criterios de malignidad de células neoplásicas.....	53



## RESUMEN

El presente estudio fue realizado en el laboratorio de la escuela profesional de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Privada Antenor Orrego, con el fin de obtener determinar y clasificar las neoplasias de células redondas en piel y tejidos subcutáneos, más frecuentes en *Canis familiaris*, mediante citología, utilizando la técnica de punción y aspiración con aguja fina y tinción wright; el estudio se realizó en 58 canes, con presencia de neoplasias cutáneas y subcutáneas, de diferente sexo, edad, raza y condición corporal; de los cuales, 57% fueron machos y 43% hembras; Se observó que las neoplasias de células redondas fueron las de mayor número, con un 53.4% del total de muestras obtenidas; siendo el mastocitoma, el de mayor prevalencia dentro de este grupo, con un 41.9%, seguido del tumor venéreo transmisible, con un 32.3 %, del total de canes; fueron los canes mestizos, los que obtuvieron el mayor porcentaje de neoplasias, con 48.4%, seguido del American pitbull con 12.9%. Concluyéndose que el diagnóstico citológico mediante PAAF y tinción wright es un método eficaz, rápido, poco invasivo y económico para el diagnóstico de nuestros pacientes.

## **SUMMARY**

The present study was carried out in the research laboratory of Veterinary Medicine of the Private University Antenor Orrego, in order to obtain information about the round cell neoplasias in skin and subcutaneous tissues, more frequent in *Canis familiaris* by means of cytology using the puncture technique And aspiration with fine needle and wright staining, the study was performed in 58 dogs with cutaneous and subcutaneous neoplasms of different sex, age and body condition, of which 57% were male and 43% female; It was observed that the round cell neoplasms were the most numerous with 53.4% of the total samples obtained, with the mastocytoma being the highest incidence within this group, with 41.9% followed by the transmissible venereal tumor with 32.3% of the Total of dogs, the mestizos were the ones that obtained the greater percentage of neoplasias with 48.4%, followed by the American pitbull with 12.9%. Concluding that the cytological diagnosis by PAAF and Wright staining is an efficient, fast, non invasive and economical method for the prognosis of our patients

## I. INTRODUCCIÓN

Es un hecho que nuestros canes, que son los pacientes que llegan al consultorio día a día, tienen un periodo de vida más largo; esto se debe por una parte a sus propietarios, que llevan a sus mascotas a las clínicas para exámenes periódicos, y los servicios profesionales que prestan los Médicos veterinarios. Al aumentar la longevidad de los animales de compañía, las enfermedades geriátricas en general y los tumores en particular, son motivo de consulta cada vez más frecuentes en nuestras clínicas.

El término tumor cutáneo incluye cualquier crecimiento anómalo de carácter neoplásico o no, que afecta a poblaciones celulares de la epidermis, dermis y anexos cutáneos. Según diferentes autores y estudios realizados, los tumores cutáneos y subcutáneos son los más frecuentes en la especie canina, cuya incidencia se sitúa alrededor del 40-45 % del total de neoplasias en esta especie (Fraile, 2012).

El examen citológico de muestras de tejido es una técnica rápida y sencilla que requiere un equipamiento mínimo, fácil de llevar a cabo en el escenario de la práctica general. En la práctica, la mayoría de los veterinarios clínicos deberían ser capaces de usar la citología para discernir entre lesiones reactivas y neoplásicas e incluso diagnosticar tumores con características particulares (Dobson y Duncan, 2014).

Por lo tanto el objetivo de la presente investigación, es determinar y clasificar las neoplasias de células redondas en piel y tejidos subcutáneos, más frecuentes en *Canis familiaris* mediante PAAF y tinción Wright.

## II. REVISIÓN DE LA LITERATURA

El término “tumor”, se aplica literalmente a las tumefacciones causadas por la inflamación. Cáncer es término común para designar a todos los tumores malignos, probablemente deriva de la palabra latina [cáncer], (cangrejo) presumiblemente porque un cáncer se agarra a cualquier parte con la misma obstinación de un cangrejo (Robbins y Cotran, 1995).

En cuanto al crecimiento y evolución de las neoplasias, depende crucialmente de su estroma. Es imprescindible un aporte sanguíneo adecuado por el estroma y tejido conectivo del mismo, el cual constituye el almacén del parénquima. En algunos tumores el soporte del estroma es escaso y el tumor es blando y carnosos. Los sitios más importantes donde se localizan las neoplasias malignas en perros son: piel, glándulas mamarias, tejido linfático, cavidad oral, y el sistema esquelético. La enfermedad progresa más rápido en perros que en humanos (Robbins y Cotran, 1995).

La citología es una herramienta de gran utilidad en la práctica del médico veterinario para el diagnóstico del cáncer. Si a través de la citología se diagnostica un proceso neoplásico maligno o si no se establece con precisión la causa del proceso, la muestra debe ser remitida para un estudio histopatológico, con el fin de confirmar el diagnóstico e iniciar un tratamiento específico (De Buen, 2001; Rangel, 2001; Morris y Dobson, 2002).

Las muestras citológicas pueden ser recolectada por diferentes técnicas: impresión, raspado y punción con aguja fina. La técnica de recolección utilizada depende de la localización anatómica y características del tejido para hacer el muestreo (De Buen, 2001; Morris y Dobson, 2002; Nelson y Couto, 2005).

El reconocimiento de más de tres criterios de malignidad en el núcleo en un alto porcentaje de las células, es una evidencia fuerte de malignidad. Cuando uno o dos criterios son reconocidos en algunas células, el tumor puede ser benigno o maligno, donde se sugiere la toma de una biopsia (Ogilvie y Moore, 2008).

Una vez que el proceso neoplásico es sospechado, las células son examinadas y categorizadas de la siguiente manera, benignas o malignas, como carcinomas, sarcomas o tumores de células redondas, por tipo celular específico y por grado de diferenciación (Ogilvie y Moore, 2008).

Un cáncer será lo suficientemente grande para ser detectado clínicamente de alrededor de 1 gramo el cual tiene una larga historia natural, se ha estimado que un tumor con una masa de 1 gramo está constituida por aproximadamente 10 células neoplásicas y ha sufrido por lo menos 30 divisiones mitóticas (García, 2001).

## **2.1. Carcinogénesis**

Las etiologías que contribuyen al desarrollo del cáncer incluyen a virus oncogénicos (papilomavirus, herpesvirus y particularmente retrovirus), radiaciones, agentes químicos y determinantes genéticos, incluyendo mecanismos de reparación de ADN (Moulton, 1990; Morris y Dobson, 2002).

La carcinogénesis puede resultar de la acción de gran variedad de causas químicos, físicos, biológicos y/o genéticos a las células o de una combinación de estos. La carcinogénesis, es el proceso por el cual, las células normales son transformadas en células neoplásicas. Las células que sufren

este proceso a menudo se refieren como células transformadas (Moulton, 1990; Morris y Dobson, 2002).

El proceso de transformación involucra a una población de células susceptibles. No todas las células son igualmente susceptibles a las presiones carcinogénicas. Es un proceso con fases múltiples, estas fases comprenden a la iniciación, promoción y progresión.

La carcinogénesis es un proceso multigenético, que involucra cambios en la expresión de múltiples genes, lo cual, no es sorprendente cuando se considera las variadas formas en las que una célula maligna difiere de una célula normal.

Los genes que particularmente son el blanco para el cambio, durante la carcinogénesis, son aquellos conocidos como proto-oncogenes (uno o más de los cuales quedan activados) y como genes supresores de tumores (uno o más de los cuales quedan inactivados).

Estos cambios en la expresión genética conducen crecimiento progresivamente autónomo y disforme de las células transformadas.

Aunque múltiples células dentro de la población de células susceptibles pueden estar desarrollando transformación, las neoplasias (el producto final del proceso de carcinogénesis) generalmente resultan del crecimiento clonal de una célula solitaria. Sin embargo, aunque derivadas de una única clona, estas células transformadas son genéticamente inestables y rápidamente acumulan cambios genéticos adicionales, por lo que, con el tiempo divergen en una población de células neoplásicas, mostrando una gran variedad de propiedades genotípicas y fenotípicas (Moulton, 1990; Morris y Dobson, 2002).

## 2.2. Invasión y metástasis

La metástasis es un proceso secuencial y complejo que comprende la interacción entre el organismo y la neoplasia, y básicamente se refiere a la invasión y diseminación de las células del tumor primario en el organismo, con formación de focos neoplásicos distantes. Este proceso es mediado por la interacción de diversos factores, como por ejemplo, factores enzimáticos, angiogénéticos, metabólicos y reguladores del crecimiento tisular y vascular (Moulton, 1990; Ebert, 2002).

Debido al crecimiento continuo e incontrolado, las células neoplásicas necesitan irrigación sanguínea adicional para poder nutrirse y sostener su crecimiento. Esto lo logran mediante el proceso conocido como angiogénesis, en el cual, se induce la formación de vasos sanguíneos adicionales que irrigan específicamente el tumor. Para poder desprenderse del tumor primario y poder abrirse paso a través del organismo, las células neoplásicas digieren tejido conectivo mediante enzimas proteolíticas. Una vez alcanzados los vasos sanguíneos y/o linfáticos, las células migran a través del organismo. Aquellas células que sobreviven la acción del sistema inmune inespecífico y específico, logran penetrar tejidos u órganos distantes, formando tumores secundarios (Moulton, 1990; García, 2014; Ebert, 2002).

Por tal motivo, dentro de la fisiopatología tumoral, es primordial discutir algunos puntos relevantes del proceso de metástasis (Moulton, 1990).

Las rutas de metástasis incluyen:

Vasos linfáticos, los cuales no tienen membrana basal, se indica que esta es la ruta preferencial de los carcinomas, pero esta ruta, también es

descrita para algunos sarcomas, por lo que, esta aseveración no siempre es cierta ni es precisa (García, 2014).

Vasos sanguíneos, la intravasación y extravasación generalmente ocurre a nivel capilar donde la barrera es limitada a una capa de células endoteliales y la membrana basal subyacente (Moulton, 1990; Baker y Lumsden, 2000; Morris y Dobson, 2002).

Transcelómica, esta se lleva a cabo en las cavidades del cuerpo a través de diseminación por continuidad a lo largo de la superficies serosas y a través de exfoliación de células cancerosas hacia las efusiones de las cavidades y su implantación en las superficies serosas (mesotelioma y carcinoma ovárico) (Morris y Dobson, 2002; Ogilvie y Moore, 2008).

Patrones de colonización, la experiencia colectiva con varios cánceres ha revelado tendencias de tumores particulares para colonizar con preferencia a ciertos tejidos. Por ejemplo, carcinomas de glándula mamaria tienden a diseminarse a ganglios linfáticos regionales, hueso, pulmones y cerebro pero no hacia riñón. Carcinomas de pulmón colonizan con más frecuencia al cerebro que al hígado. Los sitios preferenciales de metástasis están influenciados por dos factores primarios:

El acceso vascular a los tejidos, depende de la anatomía vascular. A menudo, más no siempre, las metástasis se desarrollan con preferencia dentro del primer lecho capilar que encuentran las células tumorales. Algunas veces, el acceso vascular no es tan obvio. Por ejemplo, se reporta que la propensión del cáncer de próstata tiende a diseminarse a la espina vertebral, esto influenciado por la comunicaciones entre la vena caudal y las venas paravertebrales y que un flujo sanguíneo retrógrado de la vena cava a las



venas paravertebrales pueden ocasionar metástasis (Ebert, 2002; Morris y Dobson, 2002).

La cascada metastásica, para formar una metástasis las células cancerosas debe de ser capaces de invadir las membranas basales epiteliales y/o endoteliales mediante:

Alteración de los contactos entre célula-célula y célula-matriz extracelular (MEC). Debido a que los contactos normales participan en el control de crecimiento de las células normales, la pérdida o modificación de estos contactos facilitan el escape de dicho control. La expresión de integrinas es importante tanto para la interacción de las células cancerosas con la MEC como en la transmisión de señales que activan el citoesqueleto lo cual facilita la migración celular (Baker y Lumsden, 2000; Ebert, 2002).

Degradación de las membranas basales y/o de las proteínas de la MEC, dicha degradación lleva a cabo por medio de proteasas secretadas por las células cancerosas y participa en tres puntos importantes de la cascada metastásica: la invasión del estroma en el sitio primario, la digestión de membranas basales endoteliales durante la extra e intravasación y la invasión del estroma en los sitios secundarios (Baker y Lumsden, 2000; Ebert, 2002).

Migración (quimiotaxis), a través del estroma y entre las células endoteliales. La estimulación de la quimiotaxis es por medio de factores de crecimiento, de moléculas que emanan del tejido y productos de la digestión por proteasas. Estos péptidos pueden atraer a su vez otras células cancerosas de la circulación. Las integrinas de las células tumorales median las interacciones celulares y transmiten señales para estimular el movimiento del citoesqueleto (Baker y Lumsden, 2000; Ebert, 2002)

Intravasación, las células cancerosas se adhieren al aspecto estromal de la membrana basal de los vasos sanguíneos, digieren la membrana y migran a través de las células endoteliales (García, 2014; Ebert, 2002).

Diseminación y supervivencia dentro de la circulación, el torrente sanguíneo es un medio hostil para las células tumorales debido a la presencia de turbulencias, proteasas séricas y mecanismos inmunes antitumorales (células citotóxicas naturales y linfocitos T citotóxicos). Las células pueden ser transportadas como células individuales o como agregados tumorales que les permita resistir el estrés de la circulación (Ebert, 2002).

El arresto dentro de vasos capilares o linfáticos en los sitios distantes. El arresto puede ser mecánico en los vasos de menor calibre o a través de la adhesión específica entre las células tumorales y las células endoteliales, lo cual, contribuye a una metástasis órgano-específica (Ebert, 2002).

La extravasación e invasión del estroma en el sitio secundario. Este paso implica procesos similares a los descritos para la invasión del estroma y la intravasación en los sitios primarios (Ebert, 2002).

### **2.3. Diagnóstico citológico de neoplasias en células redondas del perro.**

Es muy importante que el diagnóstico citológico debe ser utilizado en conjunto con toda la información clínica disponible y ser considerado puramente como una herramienta adicional en el trabajo diagnóstico del paciente (Moulton, 1990; Rangel, 2001).

El diagnóstico morfológico de la entidad neoplásica en todos los casos representa la base para establecer una terapéutica y un pronóstico de

sobrevida. Las muestras necesarias para este fin deben llegar al laboratorio en óptimas condiciones. Es decir, utilizar ante una tumoración un método no invasivo, rápido, económico, extraordinariamente seguro y confiable para establecer el tipo de proceso que originó la tumoración (Inflamatorio o neoplásico) como es la citología y posterior a la cirugía, un método diagnóstico que nos permita hacer una evaluación de la arquitectura de la neoplasia, para estimar la posibilidad de recidiva y metástasis regional y a distancia (Morris y Dobson, 2002; Ogilvie y Moore, 2008).

### **2.3.1. Muestras citológicas**

La citología permite examinar grupos celulares de diferentes partes del organismo, convirtiéndola en una herramienta diagnóstica muy importante para el clínico. La colección de muestras citológicas como se mencionó con anterioridad es muy sencilla, económica, segura para el paciente y dependiendo del sitio de localización de la tumoración y de las características clínicas adicionales que presente se determinará que método de muestreo es el más conveniente para cada caso. Hay que tener muy claro, que el éxito del diagnóstico citológico depende en gran medida de la calidad de la muestra obtenida; es decir, de la presencia de material celular suficiente, de la preparación adecuada de los frotis y de su óptima conservación (De Buen, 2001; Morris y Dobson, 2002; Ogilvie y Moore, 2008).

### **2.3.2. Técnicas de recolección**

Las muestras citológicas pueden ser recolectadas por diferentes técnicas: impresión, raspado y punción y aspirado con aguja fina (PAAF). La técnica de recolección utilizada depende de la localización anatómica y características del tejido para hacer el muestreo. Cuando es posible, varias

muestras deben ser recolectadas con el fin de dejar algunas sin teñir por si es necesario realizar tinciones especiales o remitir las muestras al patólogo. (Rangel, 2001).

### **Punción y aspiración con aguja fina (PAAF)**

Esta técnica se utiliza para la obtención de muestras cutáneas, subcutáneas, ganglios linfáticos, órganos abdominales o torácicos y masas intracavitarias. Se utiliza una aguja del número 21 a 25 y jeringas de 3 cc; el tamaño de la aguja depende de la consistencia de la masa u órgano, con el fin de obtener una suficiente cantidad de células, evitando la contaminación con sangre. Cuando se aspiran masas superficiales cutáneas o subcutáneas la simple preparación del sitio para una inyección es suficiente, pero para muestrear dentro de cavidades corporales se debe de rasurar y preparar el área de manera quirúrgica. La aguja unida a la jeringa es introducida y se aspira de la mitad a dos terceras partes de la jeringa, tres a cuatro veces y la aguja es redireccionada tres veces, repitiendo la operación, se libera la presión negativa y la aguja es extraída de la masa u órgano. Para extraer la muestra de la aguja, se separan la aguja de la jeringa, se llena de aire la jeringa, se coloca la aguja en la jeringa y se expulsa el aire y material sobre un portaobjetos para la realización de un frotis por deslizamiento (Álvarez, 2001).

### **2.4. Elaboración de los frotis**

La técnica más empleada para la elaboración de los frotis es la de squash o por aplastamiento. Una vez que la aguja se ha retirado de la tumoración, esta se separa de la jeringa, la cual se llena por completo con aire y posteriormente se vuelve a conectar la aguja (que es la que contiene el material en la mayoría de los casos) y se expulsa el material sobre un

portaobjeto limpio y desengrasado, colocándose un segundo portaobjeto sobre este (De Buen, 2001; Rangel, 2001; Morris y Dobson, 2002).

Una vez hecho esto, por simple adhesión se expande el material sobre el portaobjeto, y en caso de que esto no suceda, se puede aplicar presión digital muy suave para que el material se expanda. El segundo portaobjeto es deslizado suave y rápidamente sobre el primero y se separan; es en este momento en el que se procede a fijar los frotis. Cabe hacer mención que al deslizar la muestra proporciona frotis de buena calidad, aunque si se aplica una presión digital excesiva dará como resultado una gran destrucción celular (De Buen, 2001; Morris y Dobson, 2002).

## **2.5. Métodos de fijación**

La fijación de los especímenes citológicos depositados en una lámina es vital para evitar cambios en la morfología celular, que indiscutiblemente van a alterar e incluso nulificar la interpretación de los hallazgos microscópicos. Actualmente se utilizan métodos de fijación basados en el estatus de hidratación de la célula al momento de la fijación. Cada uno conlleva ventajas y desventajas sobre el otro; sin embargo, no se contraponen, más aún son complementarios. Aunque dependiendo la formación del citopatólogo, este preferirá alguno de los dos, ya que las tinciones y la interpretación de los hallazgos microscópicos es un tanto diferente entre uno y otro (De Buen, 2001; Morris y Dobson, 2002).

### **Fijación en seco**

También denominada fijación al aire, o mal llamada muestras sin fijar. En esta, una vez que se ha realizado el frotis, se debe secar lo más rápido que

sea posible, incluso puede recurrirse a realizar movimientos en abanico.

Una vez que el frotis se ha secado, se procede a aplicar el fijador sobre la lámina por un periodo no menor a tres minutos. El fijador de elección para estos casos es el metanol (De Buen, 2001; Morris y Dobson, 2002).

Este tipo de fijación se utiliza primordialmente para tinciones tipo Romanowsky: Wright, Giemsa y Diff-Quik.

## **2.6. Tinción de Wright**

La Tinción de Wright fue diseñada al principio de la década de los noventas por James Homer Wright. Dicha tinción está compuesta por azul de metileno y eosina. (Quiroga, 2014).

Las estructuras con carácter ácido tales como los ácidos nucleicos o las proteínas ácidas son afines por compuestos básicos como lo es el azul de metileno contenido en la tinción. Por el contrario las estructuras de carácter básico tales como la hemoglobina y otras proteínas básicas, son afines a compuestos ácidos; tales como la eosina contenida en la tinción por lo que a la vista estas estructuras tendrán un color rojo-rosado. (Quiroga, 2014).

La tinción de Wright, es de gran trascendencia clínica ya que gracias a ella es capaz de identificarse diversas estructuras en una célula, así como la morfología y en su caso patología celular no solo de las células del sistema inmunológico, sino de todas aquellas que componen la sangre ya sea en un paciente sano o con un estado patológico (Quiroga, 2014).

## 2.7. Interpretación

La observación de la muestra debe realizarse de manera lógica y estandarizada. Toda la muestra debe ser observada microscópicamente con el objetivo 10X, con esta magnificación se puede detectar características anormales como grupos de células representativas para el estudio (las zonas de células intactas y no distorsionadas a causa de la preparación son las que deben ser elegidas), artefactos en la muestra o de la tinción y determinar si la muestra y tinción son adecuadas (De Buen, 2001; Morris y Dobson, 2002; Nelson y Couto, 2005).

Una vez identificadas las áreas con celularidad única o aumentada, son elegidas las zonas a estudiar; se debe observar con el objetivo 40X, donde se puede distinguir la composición celular y la presencia de microorganismos. El objetivo de 100X, se utiliza para observar la morfología celular, los detalles citoplasmáticos y nucleares y para la confirmación de la presencia de ciertos microorganismos (De Buen, 2001; Morris y Dobson, 2002; Nelson y Couto, 2005).

Lo primero es reconocer si las células del tejido recolectadas son normales o anormales para ese tejido en particular. Si es anormal, se debe identificar la presencia y tipo de células inflamatorias, ya que en muchos procesos inflamatorios, las células pueden sufrir cambios morfológicos. Si el proceso no es inflamatorio, se puede sospechar de una neoplasia y se debe determinar el tipo celular (epitelial, mesenquimal o de células discretas), una vez clasificado el tipo tisular, se consideran los criterios de malignidad con el fin de clasificar el proceso como benigno o maligno (De Buen, 2001; Morris y Dobson, 2002; Nelson y Couto, 2005).

Inflamación, los procesos inflamatorios se caracterizan citológicamente; los neutrófilos predominan en infecciones bacterianas, mientras que los eosinófilos predominan en procesos alérgicos o parasitarios, así mismo los neutrófilos predominan en procesos agudos, mientras que los macrófagos y linfocitos en procesos crónicos (De Buen, 2001; Morris y Dobson, 2002; Ogilvie y Moore, 2008).

En ocasiones muchas neoplasias presentan procesos de inflamación o infecciosos secundarios, y en otros casos, los procesos inflamatorios pueden presentar cambios morfológicos celulares que mimetizan una neoplasia (hiperplasia, displasia), por lo que, si no se puede determinar la causa, una biopsia debe ser tomada para un estudio histopatológico (De Buen, 2001; Morris y Dobson, 2002; Ogilvie y Moore, 2008).

Neoplasia, si los componentes celulares de la muestra indican un proceso neoplásico, se debe diferenciar entre una neoplasia epitelial, mesenquimal o de células discretas o redondas y si la neoplasia es benigna o maligna. Las neoplasias benignas presentan características prácticamente indistinguibles del tejido normal. Para establecer si esta es maligna, se consideran los criterios de malignidad (Álvarez, 2001; De Buen, 2001).

Tejidos epiteliales, las muestras presentan una alta celularidad, en general la mayoría de las células se encuentran en grupos o racimos y pocas se encuentran de manera individual con bordes citoplasmáticos poco definidos. Las células presentan forma oval a redonda, grandes, de moderado a abundante citoplasma basofílico y núcleo redondo con intensidad de tinción suave y un patrón de cromatina fino. Presencia de uno o más nucleolos prominentes. Dependiendo del origen pueden presentar citoplasma vacuolado (De Buen, 2001; Nelson y Couto, 2005; Ogilvie y Moore, 2008).



Tejidos mesenquimales, muestras con poca celularidad. Las células individuales (no tienden a agruparse) y presentan forma fusiforme (prolongaciones citoplasmáticas) o forma poligonal, de tamaño mediano a pequeño con citoplasma claro, pueden presentar bordes citoplasmáticos indefinidos. Núcleo redondo a oval, de intensidad media y patrón de cromatina fino. El nucléolo poco o no visible (De Buen, 2001; Nelson y Couto, 2005; Ogilvie y Moore, 2008).

Tejidos de células discretas o redondos, celularidad alta, células pequeñas a medianas, redondas e individuales. Bordes citoplasmáticos bien definidos, núcleo redondo. Los nucleolos no son visibles (De Buen, 2001; Nelson y Couto, 2005).

## **2.8. Criterios de malignidad**

Para estimar el potencial de malignidad, es más confiable tomar en cuenta los criterios de malignidad en el núcleo más que en el citoplasma, debido a que en general, el núcleo sufre menos modificaciones en procesos inflamatorios, hiperplásicos o displásicos que el citoplasma (Ogilvie y Moore, 2008).

El reconocimiento de más de tres criterios de malignidad en el núcleo en un alto porcentaje de las células es una evidencia fuerte de malignidad. Cuando uno o dos criterios son reconocidos en algunas células, el tumor puede ser benigno o maligno, donde se sugiere la toma de una biopsia. Si no es reconocido ningún criterio de malignidad en el núcleo, existe una evidencia fuerte de que se trate de una neoplasia benigna. Si no se determina con seguridad el tipo del proceso, las muestras deben ser referidas a un

citopatólogo calificado o realizarse un estudio histopatológico (Ogilvie y Moore, 2008).

### **2.8.1. Criterios generales de células neoplásicas**

Celularidad, en general las muestras con alta celularidad sin un componente inflamatorio significativo, son malignas. Este criterio es apropiado únicamente en tejidos epiteliales y mesenquimales (Baker y Lumsden, 2000; De Buen, 2001; Ogilvie y Moore, 2008).

Pleomorfismo, la mayoría de los tejidos normales presentan una población celular uniforme tanto en forma como en tamaño. En neoplasias malignas, esta uniformidad de forma y tamaño (anisocitosis) se pierde, al grado que en algunos casos llega a ser muy difícil la distinción del tipo tisular (Baker y Lumsden, 2000; De Buen, 2001; Ogilvie y Moore, 2008).

Localización, un criterio simple y obvio es la localización anormal de una población celular en particular o sea, encontrar cualquier tipo celular neoplásico en tejidos que normalmente no presente ese tipo celular. Por ejemplo encontrar células epiteliales neoplásicas en ganglios linfáticos indica la presencia de una metástasis (Baker y Lumsden, 2000; De Buen, 2001; Ogilvie y Moore, 2008).

### **2.8.2. Criterios nucleares**

Tamaño nuclear, en tejidos normales, hiperplásicos y neoplásicos benignos, el tamaño nuclear es relativamente uniforme. En procesos neoplásicos malignos la anisocariosis (diferentes tamaños nucleares) es prominente. Si los núcleos varían de 1.5 a 2 veces el tamaño respecto a otras

células del mismo tipo de tejido, la malignidad es altamente sospechosa (Baker y Lumsden, 2000; Ogilvie y Moore, 2008).

Forma nuclear, así como el tamaño nuclear, la forma del núcleo se conserva de manera uniforme en procesos benignos. En poblaciones celulares malignas se puede encontrar una mezcla de núcleos redondos, ovoides, hendidos o con forma bizarra (Álvarez, 2001; Ogilvie y Moore, 2008).

Radio Núcleo/Citoplasma, el radio o proporción núcleo / citoplasma se mantiene uniforme en tejidos normales, hiperplásicos y neoplásicos benignos. La variación de estroma proporción entre células de una población monótona de células no inflamatorias es altamente indicativa de malignidad. Se debe considerar que ciertas poblaciones celulares epiteliales como el epitelio transicional de la vejiga o el epitelio escamoso, normalmente exhiben una variación en el radio núcleo / citoplasma (Ogilvie y Moore, 2008).

Nucleolo.- Muchos tejidos normales presentan células con uno o múltiples nucleolos, pero en general, estos son pequeños, redondos y de tamaño uniforme entre las células del mismo tejido. En procesos hiperplásicos y neoplásicos benignos, las células pueden presentar múltiples nucleolos, sin embargo mantienen de manera uniforme su forma normal y tamaño pequeño. Muchas poblaciones celulares malignas presentan múltiples y/o prominentes nucleolos con posibles variaciones en el tamaño y forma entre diferentes células o en el núcleo de la misma célula. Si una marcada variación en los nucleolos es identificada, es indicativo de malignidad (Ogilvie y Moore, 2008).

Patrón de la cromatina nuclear, la uniformidad en el patrón de la cromatina nuclear es una regla en tejidos normales, hiperplásicos y neoplásicos benignos. El patrón puede variar dependiendo del tipo de tejido,

como estar finamente distribuido en tejidos mesenquimales normales o bien de manera densa en tejidos linfoides normales, pero manteniéndose de manera constante en ese tejido. En general en procesos malignos, el patrón es de forma acordonada y tiende a distribuirse de una manera desigual con agregaciones en algunos sitios (Ogilvie y Moore, 2008).

Deformación nuclear, en tejidos normales o proliferativos benignos, la organización celular se mantiene, esto evita la distorsión de células adyacentes manteniendo una forma y tamaño celular y nuclear uniforme. En algunos procesos proliferativos malignos, esta organización se pierde provocando una compresión y distorsión celular y nuclear (Baker y Lumsden, 2000; Álvarez, 2001; Ogilvie y Moore, 2008).

Figuras mitóticas, el hallazgo de figuras mitóticas significa que el tejido presenta un alto rango de división celular y no precisamente indica malignidad, sin embargo el encontrar figuras mitóticas anormales, en donde el material nuclear es distribuido en más de dos direcciones o de manera desigual, es sugestivo de malignidad, excepto en el caso del tumor venéreo transmisible donde a pesar de ser común encontrar figuras mitóticas anormales, tiene un comportamiento benigno (Baker y Lumsden, 2000; Ogilvie y Moore, 2008).

Múltiples núcleos, en ciertos tipos celulares como en los macrófagos que llegan a presentar varios núcleos (células gigantes) y hepatocitos que llegan a presentar dos núcleos, es normal que presenten multinucleación. Sin embargo, si múltiples núcleos de tamaño variable y diferencia en el número en una célula en particular, es indicativo de malignidad, así como encontrar variaciones en el tamaño nuclear en una misma célula multinucleada, indica una división con distribución anormal de la cromatina nuclear, aunque figuras mitóticas no sean encontradas (Baker y Lumsden, 2000).

### **2.8.3. Criterios citoplasmáticos**

Basofilia, las células inmaduras y altamente activadas presentan un citoplasma basofílico debido a la gran cantidad de ARN citoplasmático en comparación a las células bien diferenciadas de la población que no presentan una marcada síntesis proteica. Muchas células malignas presentan una maduración anormal del citoplasma provocando la tinción basofílica del mismo. Obviamente al ser una característica de células inmaduras, este criterio no es fuertemente indicativo de malignidad, por lo que debe ser considerado en conjunto con otros criterios de malignidad nuclear (Ogilvie y Moore, 2008).

Vacuolización.- Muchas células normales de diferentes tejidos presentan vacuolas en su citoplasma como los macrófagos que tienen una función fagocítica, o bien en células epiteliales secretorias (tejido glandular) pueden presentar algunas vacuolas similares, uniformes, claras y alrededor del núcleo. También muchas células en diversos estados de degeneración como hidrópica o grasa, presentan vacuolización. En ocasiones, las células del epitelio glandular maligno pueden presentar vacuolas únicas y de gran tamaño causando la compresión del núcleo sobre la periferia, el encontrar varias células con estas características puede ser significativo de malignidad (Álvarez, 2001).

Canibalismo, la fagocitosis de células del mismo tejido es un proceso que se llega a presentar en macrófagos, neutrófilos, células epiteliales malignas y en tumores de células discretas. El canibalismo puede llegar a ser indicativo de malignidad sobre todo si se encuentra de manera extensa, pero como en los demás criterios de malignidad citoplasmáticos, debe ser

considerado en conjunto con otros criterios de malignidad nuclear (Ogilvie y Moore, 2008).

## **2.9. Neoplasias de células redondas**

Estas neoplasias son comunes en medicina canina y poseen rasgos citológicos distintivos. En la evaluación citológica, todas las células son redondas, tienen límites citoplasmáticos bien definidos y se exfolian con facilidad en células individuales, debido a su ausencia de adhesiones célula a célula (Baker y Lumsden, 2000; De Buen, 2001; Ogilvie y Moore, 2008).

La incidencia de tumores en piel y tejidos subcutáneos es alta, se indica que son los tumores más frecuentes en perros, correspondiendo aproximadamente un tercio de todos los tumores hallados en esta especie. Estimaciones de la incidencia anual de tumores de piel y tejido subcutáneo han descrito unos 450 casos por cada 100.000 perros. Un estudio realizado en perros encontró que de un total de 93 cánceres de piel (ya que algunos animales tenían más de un tipo de neoplasia) 58 tumores fueron malignos y 33 benignos, En cuanto al origen 33 fueron epitelial, 33 procedentes de células redondas, 20 de origen mesenquimal y 7 melanocitos (Vail y Withrow, 2014; Mazzocchin, 2013)

En la piel tiene lugar numerosos tipos de tumores se presenta una lista de los 10 tumores no linfáticos más comunes en el perro basada en más de 6000 casos de cuatro continentes. Aproximadamente el 75% de los tumores cutáneos del perro y del gato se encuentran en esa lista. (El mastocitoma, es el tumor más frecuente en el perro y el segundo en el gato), aproximadamente entre el 20 y 40 % de los tumores primarios de la piel y tejidos subcutáneos son histológicamente malignos; un estudio calculo la curva de desarrollo de

tumores malignos cutáneos en el perro según la raza y edad. Estos investigadores se encontraron que el riesgo se incrementaba linealmente por un factor de 1.1 con cada año de edad, y que los perros de raza pura tenían el doble de desarrollar tumores malignos que los perros cruzados. En general, los tumores cutáneos se presentan en animales mayores. No hay diferencia significativa en la incidencia por sexos considerando todos los tumores cutáneos juntos (vail y Withrow, 2014).

### **2.9.1. Linfoma**

Los términos linfoma y linfosarcoma se utilizan como sinónimos en medicina veterinaria. El linfoma es el tumor hematopoyético más común en el perro, y su historia natural y progresión están bien descritas (Morris y Dobson, 2002; Nelson y Couto, 2005; Ogilvie y Moore, 2008).

El linfoma canino es uno de los tumores malignos más comunes en el perro, poco común en perros jóvenes; los afectados suelen ser de edad media (6 a 12 años de edad). El sexo o la gonadectomía no es un factor predisponente para el desarrollo tumoral. Siendo el tumor hematopoyético que se presenta con mayor frecuencia en esta especie. Tiene una incidencia de 6 a 30 casos de cada 100,000 perros en riesgo, teniendo una mayor predisposición en ciertas razas como bóxer, terrier escocés, basset hound, airedale terrier, chow chow, pastor alemán, poodle, san bernardo, bulldog inglés, beagle y cobrador dorado (Mucha y otros, 2005; Nelson y Couto, 2005; Ogilvie y Moore, 2008).

La epidemiología es multifactorial, con participación activa de influencias genéticas y ambientales. La tasa de incidencia puede ser creciente,

pero esto es difícil de establecer con exactitud, porque no se comunican todos los casos (Nelson y Couto, 2005; Ogilvie y Moore, 2008).

Las causas ambientales de linfoma pueden obrar mediante la supresión del sistema inmune. En un estudio se mencionó que los perros con trombocitopenia inmunomediada tenían mayor probabilidad de experimentar linfoma, pero no se valoró la asociación causa y efecto (Ogilvie y Moore, 2008).

El linfoma al caracterizarse como una proliferación maligna de células linfoides, puede presentarse en cualquier órgano que contenga tejido linfoide. Se reconocen cuatro formas de presentación anatómica del linfoma en el perro y el gato, que son multicéntrica (generalizada), alimentaria, mediastínica (tímica) y extranodal (renal, neural, ocular y cutánea). Sin embargo, independientemente del sitio de origen, la enfermedad finalmente puede diseminarse e involucrar otros tejidos linfoides y no linfoides, particularmente el bazo, hígado y médula ósea (Álvarez, 2001; Morris y Dobson, 2002; Nelson y Couto, 2005).

Aunque el linfoma es una enfermedad sistémica, es importante determinar la extensión de la enfermedad en los distintos órganos e identificar condiciones secundarias o no relacionadas que necesiten ser tratadas o controladas antes de instituir un tratamiento (Álvarez, 2001).

El diagnóstico se basa normalmente en los resultados de los datos clínicos incluyendo la biopsia (Álvarez, 2001; Nelson y Couto, 2005 y Ogilvie y Moore, 2008).

En esta clasificación se reconocen si los signos de enfermedad sistémica están presentes o no. Se utiliza el esquema de la Organización Mundial de la Salud (OMS) para su clasificación. Esta se basa en los



resultados del examen físico, resultados de pruebas de laboratorio, estudios imagenológicos, evaluación citológica de aspirados con aguja fina de tejidos linfoides y médula ósea afectados, evaluación histológica de tejidos linfoides afectados, biopsia de médula ósea y evaluación oftalmológica. Si se encuentran presentes signos sistémicos del sistema nervioso central, el examen de líquido cefalorraquídeo debe ser realizado (Álvarez, 2001; Nelson y Couto, 2005 y Ogilvie y Moore, 2008).

### **2.9.2. Mastocitoma**

El mastocitoma es una neoplasia maligna de células redondas que resulta de la proliferación excesiva de mastocitos. Es el más común en perros y se originan en células cebadas a partir de tejido conectivo, representa el segundo lugar de frecuencia de todas las neoplasias cutáneas y subcutáneas en esta especie, tienden a afectar a animales maduros (con una edad promedio de 8 años), pero pueden presentarse a cualquier edad, desde los 4 meses hasta los 18 años. No hay predilección por sexo, pero hay varias razas que parecen tener una mayor predisposición para el desarrollo de este tumor entre las que se incluyen: bóxer, boston terrier, bullmastiff, bull dog, setter inglés, labrador, golden retriever, teckel, weimaraner, basset hound, cobrador dorado, beagle, pointer, terrier escocés y sharpeis. La forma extra cutánea es rara y sitios como el hígado, bazo, riñón, aparato gastrointestinal y cavidad oral han sido reportados como lugares de presentación del mastocitoma (Cowell y otros, 1989; Morris y Dobson, 2002; Mucha y otros, 2005; Moreno, 2012; Vail y Withrow, 2014).

Los mastocitomas en caninos muestran una gran diversidad respecto a su apariencia macroscópica, conducta clínica, velocidad de metástasis y repuesta al tratamiento, por lo que representan un considerable problema a la

hora de establecer un pronóstico y determinar un tratamiento (Morris y Dobson, 2002).

La etiología es desconocida, sin embargo, la mayoría de los mastocitomas se originan en la piel, por lo que, se han sugerido que los carcinógenos tópicos pueden jugar un papel importante. Se han descubierto anormalidades en cromosomas y protooncogenes, que cuando se combinan con la activación crónica de mastocitos (que presentan anormalidades genéticas por factores hereditarios o ambientales) conllevan a un crecimiento neoplásico (Mucha y otros, 2005).

Respecto a los signos clínicos, no hay una presentación típica para el mastocitoma canino. El aspecto macroscópico puede ser similar al de cualquier otro tumor cutáneo y el mastocitoma debería ser considerado en el diagnóstico diferencial de cualquier tumor de piel. Por lo general, los mastocitomas bien diferenciados de bajo grado se presentan como un nódulo dérmico de crecimiento lento y solitario. Algunos tumores se ulceran a través de la piel y, en algunos casos, la liberación de histamina por parte de células tumorales puede causar que la lesión fluctúe en su tamaño y se enrojezca con el pasar del tiempo. Los mastocitomas más agresivos pueden presentarse como grandes masas mal definidas de tejidos blandos y algunos pueden ser rodeados por nódulos satélites a medida que el tumor se disemina a través de los vasos linfáticos cutáneos adyacentes (Morris y Dobson, 2002; Mucha y otros, 2005).

La conducta tumoral de los mastocitomas puede variar, desde tumores de bajo grado con lento crecimiento que siguen un curso benigno, hasta aquellos tumores malignos invasivos y de rápido crecimiento, existiendo muchos estadios intermedios. La graduación histológica basada en el grado

de diferenciación celular, el índice mitótico y la invasión del tejido adyacente. Se describen tres grados de mastocitoma:

Mastocitoma bien diferenciados, generalmente son de bajo grado y muestran un curso benigno, presentando un pronóstico favorable.

Mastocitoma poco diferenciados, son invasivos con un alta tasa metastásica y, por lo tanto, tienen un mal pronóstico.

Mastocitoma con diferenciación moderada, están entre los anteriores, tanto en el aspecto histológico como en la conducta. Desafortunadamente, muchos mastocitomas caen en esta categoría intermedia, en la que es difícil predecir el pronóstico (Morris y Dobson, 2002; Mucha y otros, 2005).

Los mastocitomas malignos pueden desarrollar metástasis, ya sea por vía linfática o sanguínea. En la mayoría de los casos, el primer signo de metástasis es el agrandamiento del linfonódulo local. La metástasis pulmonar discreta es rara; los mastocitomas diseminados desarrollan sus metástasis con más frecuencia en el bazo, el hígado y los riñones. La piel es también un sitio común para el desarrollo de metástasis (Morris y Dobson, 2002).

### **2.9.3. Tumor venéreo transmisible (TVT)**

El tumor venéreo transmisible canino es una neoplasia de células redondas de probable origen histiocítico, altamente contagioso y virtualmente el único transmisible, mediante el trasplante celular, por contacto directo durante el coito, lamido o el olfateo de la región genital del animal portador en general, aunque también por otras interacciones sociales entre perros (Mucha y otros, 2005; Nelson y Couto, 2005; Ogilvie y Moore, 2008).

Puede enfermar cualquier raza, el tumor suele afectar perros jóvenes con actividad sexual, es más prevalente en las regiones con abundancia de perros sin dueños o sueltos, sin manejo reproductivo. Las hembras son más susceptibles (Mucha y otros, 2005; Nelson y Couto, 2005).

No se conoce la etiología exacta que causa el TVT. Se piensa que puede estar involucrado un agente viral, pero aún no ha sido aislado. Los animales jóvenes sexualmente intactos y errantes se encuentran en mayor riesgo por su mayor actividad sexual. Las células neoplásicas tienen una diferencia en el número de cromosomas (Mucha y otros, 2005).

La presentación clínica que manifiesta más frecuente es un goteo sanguinolento vaginal o prepucial.

Los TVT pueden ser solitarios o múltiples, de color rosado a rojo con forma de coliflor y con gran variabilidad en su tamaño, con dimensiones desde 0.5 mm hasta una decena de centímetros, y casi siempre residen en genitales externos como masas firmes, blandas o friables, proclives a la ulceración y el sangrado. La infección bacteriana secundaria puede seguir a la invasión más profunda de la mucosa, como resultante secreción serosanguinolenta o hemorrágica pura. Puede haber deformación genital, incluyendo tumefacción marcada y ulceración. En ocasiones se producen disuria o debilidad. En algunos casos, la mucosa nasal es la residencia primaria lesional (Morris y Dobson, 2002; Mucha y otros, 2005; Nelson y Couto, 2005; Ogilvie y Moore, 2008).

En algunos casos llegan a producir metástasis a peritoneo, escroto o linfonodos regionales y muy rara vez metástasis intraocular. No afecta la

fertilidad pero impide el apareamiento por razones mecánicas o por dolor cuando aparecen úlceras con inflamación e infección, (Mucha y otros, 2005).

Otras formas de transmisión están dadas por medio del olfateo y el lamido que permiten la implantación de las células tumorales en zonas extragenitales como la piel, las vías nasales y ojos incluso la conjuntiva (Levy, 2006; Park, 2006).

El TVT puede propagarse mediante extensión desde los genitales hacia el útero y oviductos. Los ganglios linfáticos inguinales son el sitio más probable para las metástasis linfáticas, y la enfermedad metastásica distante fue identificada en vísceras abdominales, piel y sistema nervioso central. El tumor se transmite por contacto directo de las membranas mucosas, el daño a la membrana mucosa puede aumentar la transmisión. Debido a que las mucosas genitales de ambos sexos son más vulnerables a las lesiones en el momento del apareamiento, esto predispone a la formación de tumores. Aunque es raro, estos tumores se pueden encontrar en regiones extragenitales, también se informa de que la metástasis rara vez ocurre en regiones oculares, nasales o gingivales debido a actividades como oler lamer o rascarse. (Papazoglou, 2001; Gurel, 2012; Nelson y Couto, 2005; Ogilvie y Moore, 2008).

En perros adultos normales, el TVT es infiltrado por linfocitos T y regresa luego de aproximadamente de 2 a 4 meses con un crecimiento progresivo. El diagnóstico definitivo se establece con la biopsia, pero los extendidos citológicos a partir de la punción y aspiración con aguja fina (PAAF) o improntas de la superficie lesional permiten caracterizar al TVT. Las células tumorales son discretas (tumor de células redondas), con núcleos que contienen cromatina agregada; el citoplasma es azul pálido o incoloro, con vacuolas claras distintivas (Nelson y Couto, 2005; Ogilvie y Moore, 2008).

Los perros con TVT tienen mayor riesgo de infección urinaria. La terapia antimicrobiana adecuada y el urocultivo/antibiograma deben ser concurrentes con la quimioterapia. Contados son los casos con lesiones agresivas o metastásicas que no responden al tratamiento (Nelson y Couto, 2005; Ogilvie y Moore, 2008).

#### **2.9.4. Tumor de células plasmáticas (plasmocitoma).**

Los plasmocitomas extramedulares son tumores de células plasmáticas que se presentan fuera de la cavidad de la médula ósea. La localización más común de estas neoplasias es la piel y las membranas mucosas, especialmente labios, dedos, tronco, orejas y cara (Nelson y Couto, 2005; Ogilvie y Moore, 2008), no son tumores muy comunes en perros, aunque pueden estar subdiagnosticados o ser clasificados en otros grupos de tumores. Se presentan usualmente en perros viejos, con un promedio de edad de 9 a 10 años (Nelson y Couto, 2005; Paterson, 2009).

Los plasmocitomas son usualmente nódulos levantados únicos, algunas veces ulcerados, especialmente en las neoplasias de los dedos. Los plasmocitomas cutáneos o mucocutáneos, en general no presentan signos de la enfermedad; no obstante, a los plasmocitomas orales o rectales se les asocia al efecto mordaza o al prolapso, respectivamente. Si se presentan signos generalizados de la enfermedad, se debe considerar el diagnóstico diferencial con mieloma múltiple (De buen. 2008; Paterson, 2009).

La escisión quirúrgica es el tratamiento de choque para el plasmocitoma, aunque en general esta neoplasia tiene un buen pronóstico. Cuando los márgenes quirúrgicos contienen células neoplásicas el tratamiento con radioterapia o quimioterapia suele tener un buen resultado. En un trabajo

clínico de 131 perros, tratados sólo con escisión quirúrgica, sólo un 8% de los tumores localizados tuvo recurrencia. Esta recidiva fue más común cuando los límites quirúrgicos presentaban células neoplásicas. Y el tumor primario se localizaba en la mucosa oral (Paterson, 2009).

### **2.9.5. Histiocitoma**

Es una neoplasia cutánea benigna muy común y prácticamente exclusiva en los perros. Los histiocitomas derivan de monomacrófagos, al parecer de las células de Langerhans. Se presentan sobre todo en animales menores de 4 años; sin embargo, el 82% de los casos ocurre en perros menores de 2 años. Aunque poco usual, también se puede manifestar en ejemplares de edad más avanzada, hasta en menores de 10 años. Ocupa el cuarto lugar en cuanto a frecuencia de neoplasias cutáneas y subcutáneas. En algunos estudios lo refieren como el más común; sin embargo, en países con estudios de prevalencia, la gran mayoría lo presenta dentro de las primeras cinco. Es una neoplasia autolimitante que exhibe regresión espontánea. La mayor frecuencia la encontramos concentrada en cinco razas, en particular en perros de raza bóxer (24%), rottweiler (11%), labrador (10%), maltés (8%), beagle y pastor alemán (7% cada uno). Aunque no existe un riesgo aparente según el género, el 55% de los casos ocurre en machos (Mucha y otros, 2005; Paterson, 2009).

La etiología es desconocida. Aparentemente se trata más de una hiperplasia reactiva que de una verdadera neoplasia (Mucha y otros, 2005).

Manifestaciones clínicas se presentan en general como un tumor individual de crecimiento rápido (10-30 días), con dimensiones por lo usual menores a 2 cm de diámetro, apariencia de domo, alopécico, liso, bien

delimitado, rojo, seco, superficial y en su etapa regresiva exhiben ulceración central. Son raras las presentaciones múltiples, se localizan principalmente en los miembros, pero también puede aparecer en extremidades, especialmente cabeza, pabellones auriculares y distales de las extremidades (Miller y otros, 2002; Mucha y otros, 2005; De buen, 2008; Paterson, 2009).

Macroscópicamente son lesiones solitarias, bien circunscriptas, pequeñas firmes, en forma de botón, de colores rojos brillantes bien delimitados, de tamaños variables, dérmicos y a menudo ulcerados (De buen, 2008; Paterson, 2009).

Crece rápidamente al principio, pero su tamaño se estabiliza después de la aparición. Cabe mencionar que la mayoría de los Histiocitomas tienen regresión espontánea en el plazo de meses (De buen, 2008).

El examen citológico revela láminas de histiocitos pleomórficos (células de Langerhans). Son células con núcleo redondo, múltiples nucléolos y cantidad moderada de citoplasma azul pálido, con números variables de linfocitos y neutrófilos, de acuerdo con el estadio de crecimiento o involución del tumor. Una característica de estas neoplasias es su elevado índice mitótico (Miller y otros, 2002; De buen, 2008; Paterson, 2009).



### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1. Lugar de investigación**

La presente investigación se realizó en el distrito de Trujillo, la toma de muestra se hizo de los canes que llegan con alguna anormalidad cutánea a los diferentes consultorios veterinarios procesándose luego en el laboratorio de la Universidad Privada Antenor Orrego en la Escuela Profesional de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

#### **3.2. Animales en estudio**

Se realizó la toma de muestra a 58 perros con presencia de neoplasias cutáneas y subcutáneas, de diferente sexo, edad, raza y condición corporal.

#### **3.3. Metodología para la citología**

Las muestras de las masas tumorales en piel o tejido subcutáneo de los diferentes canes enfermos, fueron llevadas al laboratorio de patología veterinaria de la Universidad Privada Antenor Orrego para su estudio, el método a utilizar fue el de punción y aspiración con aguja fina (PAAF) y la tinción de Wright.

##### **a) Desinfección y depilación en perros con neoplasias cutáneas.**

Se identificó y delimitó la zona afectada, luego se procedió a la tricotomía con el fin de evitar contaminación de la muestra obtenida, la desinfección se realizó con yodo povidona en espuma y alcohol.

**b) Punción y aspiración**

Se procedió a punzar varias veces el tumor presentado, para adquirir la muestra deseada, se ejerce una presión negativa aspirando lo punzado (dos tercios de la jeringa). La punción se debe realizar en la zona más dura de la masa tumoral utilizando una aguja número 21G x 1 ½ ''.

**c) Extensión y secado de la muestra**

Se retira la aguja de la jeringa, quedando la muestra en su interior, se aspira aire, luego se volvió a colocar la aguja y se expulsa el contenido de la aguja (la muestra) sobre la lámina porta objeto se coloca una pequeña cantidad de la sustancia aspirada, se realiza una extensión, colocando otra lámina transversal y frotando una con otra, sin ejercer presión; por último se procedió a secar la muestra (secadora de cabello).

**d) Tinción de la muestra**

La lámina se coloca en un área nivelado para evitar derrame del reactivo Wright, se le añade el reactivo wright, hasta cubrir totalmente la lámina (1 ml - 1.5ml), se deja la lámina en reposo con el reactivo por 3 minutos, luego se le aplica agua destilada (0.5ml- 1ml), por 5 min, después se enjuaga con agua corriente y se seca nuevamente (secadora de cabello), para ser observado en el microscopio.

**e) Interpretación de la citología**

Se colocó la muestra en el microscopio y se observó en 10x, 40x y lente de 100x con aceite de inmersión para poder ver la morfología celular y se

determinó según sus características a qué tipo de célula tumoral pertenece.

### 3.4. Clasificación de los resultados

Se clasificó los resultados de acuerdo al tipo de neoplasia, células redondas, y su grado de malignidad.

Se realizó una clasificación con un patrón de criterios de malignidad que se creó con ayuda del asesor para poder facilitar el diagnóstico.

### 3.5 Análisis estadísticos

Para analizar la información se construyó tablas de distribución de frecuencia de 1 entrada con sus valores absolutos y relativos. Para generalizar los resultados se construyó intervalo de confianza del 95%.

Muestra.- Para determinar el número de animales se hizo uso de la siguiente fórmula del muestreo aleatorio simple.

$$n = \frac{Z^2_{\alpha/2} PQ}{E^2} \quad \text{y} \quad nf = \frac{n}{1 + \frac{n}{N}}$$

DONDE:

n: muestra preliminar

nf muestra reajustada

$Z_{\alpha/2} = 1.96$  para un nivel de significancia:  $\alpha = 0.05$

P = 0.30 prevalencia de células neoplasias según bibliografía

Q = 1-P

E = 0.05 error de tolerancia

N = 70 población estimada de perros

$$n = \frac{(1.96)^2 (0.3) (0.7)}{(0.05)^2} = 323 \text{ perros.}$$

$$nf = \frac{323}{1 + \frac{323}{3.153}} = \frac{323}{70} = 58 \text{ perros}$$

#### IV. RESULTADOS

De las 58 muestras obtenidas (cuadro 1) se observa que el mayor porcentaje de neoplasias en piel y tejidos subcutáneos obtenidas de *Canis familiaris* se le atribuye a las células redondas 53.4%, seguido de carcinomas 25.9% y sarcomas 13.8%.

Cuadro 1. Número de muestras obtenidas de piel y tejidos subcutáneos.

Neoplasias	n <sup>1</sup>	%
Carcinomas	15	25.9
Sarcomas	8	13.8
Neoplasias de células redondas	31	53.4
Otros <sup>2</sup>	4	6.9
Total	58	100.0

n<sup>1</sup>= Número de muestras

<sup>2</sup> Melanoma, inflamación, absceso, neoplasias desconocidas.

Las muestras adquiridas de los 58 canes (cuadro 2), fueron tomadas al azar resultando que los machos (57%) superaron el número de hembras (43%)

Cuadro 2. Pacientes con neoplasias en piel y tejidos subcutáneos según su sexo.

Pacientes	n <sup>1</sup>	%
Machos	33	57
Hembras	25	43
Total	58	100

n<sup>1</sup>= Número de muestra

De los pacientes que se observaron con neoplasias de células redondas (n=31), fue el mastocitoma (41.9%) el que obtuvo mayor porcentaje seguido de tumor venéreo transmisible (32.3%) y linfoma (19.4%).

Cuadro 3. Clasificación de neoplasias de células redondas en piel y tejidos subcutáneos en *Canis familiaris*.

Neoplasia de células redondas	n <sup>1</sup>	%
Mastocitoma	13	41.9
Tumor venéreo transmisible	10	32.3
Linfoma	6	19.4
Plasmocitoma	1	3.2
Histiocitoma	1	3.2
<b>Total</b>	<b>31</b>	<b>100.0</b>

n<sup>1</sup> = Número de muestras

Del total de neoplasias de células redondas se observa que el mayor número de pacientes (45.2%) pertenecen al grupo etario de (9 años a más), mientras que el 39.7% pertenecen al grupo de (5 a 8 años) y el 16.1% al de (0 a 4 años).

Cuadro 4. Clasificación de los pacientes según su edad con presencia de neoplasias de células redondas en piel y tejidos subcutáneos.

Neoplasias de células redondas	Edad (años)		
	0 -4	5 - 8	9 –mas
Mastocitoma		4	9
Linfoma		3	3
Histiocitoma	1		
Tumor venéreo transmisible	4	5	1
Plasmocitoma			1
Total	5	12	14
%	16.1	39.7	45.2



En el siguiente cuadro, se observa que el mayor número de neoplasias de células redondas se da en perros mestizos (48.4%), seguido de American pitbull (12.9%), las otras razas solo varían de (3.2% - 6.5%). Siendo el Tumor venéreo transmisible, el de mayor incidencia en los mestizos 25.8%, del total de neoplasias.

Cuadro 5. Pacientes según su raza con presencia de neoplasias de células redondas en piel y tejidos subcutáneos.

Especies	Neoplasia de células redondas <sup>1</sup>					%	Total
	Mast.	Linf.	Hist.	Tvt.	Plasm.		
Mestizo	5	2		8		48.4	15
Rottweiler		2				6.5	2
Cocker	1			1		6.5	2
Labrador	1					3.2	1
Bóxer	1				1	6.5	2
Pitbull	3	1				12.9	4
Schnauzer	1					3.2	1
Bull terrier			1			3.2	1
Shih Tzu							0
Ppsp				1		3.2	1
Sharpei	1					3.2	1
Pekinés		1				3.2	1

<sup>1</sup>Neoplasias:Mast.=Mastocitoma, Linf.=Linfoma, Hist.=Histiocitoma,Tvt.=Tumor venereo transmisible, Plasm.=Plasmocitoma.

Del total de neoplasias de células redondas se observó que el 96.8% fueron neoplasias con más de 3 criterios de malignidad mientras que solo un 3.2% fueron células neoplásicas con menos de 3 criterios de malignidad como es el caso del Histiocitoma juvenil.

Cuadro 6. Resultados de criterios de malignidad.

Neoplasias de células redondas	Benignos	Malignos
Mastocitoma		13
Linfoma		6
Histiocitoma	1	
Tumor venéreo t.		10
Plasmocitoma		1
%	3.2	96.8
Total	1	30

## V. DISCUSIÓN

En el presente estudio se tomó la muestra a 58 canes, con masas de origen desconocidos en piel y tejidos subcutáneos mediante PAAF y tinción wright, con el fin de poder determinar su origen celular. Mediante la investigación se logró obtener los siguientes resultados: las neoplasias de células redondas fueron las de mayor prevalencia, obteniendo el 53.4%, del total de células de origen desconocido, seguido de carcinomas 25.9%, sarcomas 13.8% y otros 6.9%, datos que difieren de Mazzochin (2013); donde reporta que del total de neoplasias en piel y tejidos subcutáneos (93) pacientes las neoplasias de células redondas tienen un 35,5 % de incidencia, seguido de 48.5% de neoplasias mesenquimales, 10.5% de carcinomas y 5.5% de sarcomas. Estos resultados para nuestra realidad, son de mucha consideración debido a que, las neoplasias de células redondas poseen rasgos citológicos distintivos, lo cual beneficia en el diagnóstico del tipo de neoplasia, y por ende poder determinar el pronóstico de nuestro paciente de manera más rápida y al alcance de nuestras manos como médicos veterinarios.

En las muestras adquiridas durante el estudio, dio como resultado que entre machos y hembras no hay una diferencia significativa teniendo el 57% y 43% respectivamente; lo cual coincide con lo demostrado por Vail y Withrow, 2014; quienes reportan que no hay diferencias significativas en la incidencia por sexo considerando todos los tumores cutáneos juntos.

Respecto a los tumores de células redondas resultó el mastocitoma el de mayor prevalencia con 41.9%, lo cual coincide con lo descrito por David y Withrow (2014); quienes afirman que en la piel, tienen lugar numerosos tipos de tumores siendo el mastocitoma el tumor más frecuente en el perro. Así

mismo coincide con Cowell y Tyler (2004), quienes afirman que el tumor cutáneo más común en perros es el mastocitoma que se originan en células cebadas a partir del tejido conectivo. Datos que nos llevan a meditar si el alto número de canes con problemas alérgicos puede estar relacionado con neoplasias de células redondas como el mastocitoma ya que estas se originan de las células cebadas las cuales cumplen un papel importante en reacciones de hipersensibilidad, a esto le sumamos que el hábito de alimentación y el control de ectoparásitos en perros alérgicos y atópicos no llevan un tratamiento adecuado, lo cual genera un desorden inmunológico a nivel sistémico y más aún cutáneo.

Seguido del mastocitoma, tenemos al tumor venéreo transmisible con el 32.3%, un porcentaje muy elevado, esto se debe a la influencia de diversos factores como la falta de leyes por parte del estado, que regulan la crianza de mascotas y una alta concentración de canes callejeros, ya sea en estado de abandono o por el poco control por parte sus dueños, quienes permiten que el animal permanezca gran parte del día en la vía pública, teniendo un estrecho contacto con otros animales enfermos.

Tenemos que tener en cuenta que de las 58 muestras obtenidas fueron 10 canes, que presentaron tumor venéreo transmisible cutáneo o en piel, lo cual refleja una discrepancia con muchos autores, estos determinan que es poco frecuentes como el caso de Papazoglou (2001), Gurel (2002), quienes dicen que las implantaciones extra genitales cutáneas, de mucosa nasal, oral, ocular y anal; son poco frecuentes. Dato que nos lleva a meditar si es que podemos comparar nuestros casos o pacientes con los registrados en otras localidades, nuestra realidad es diferente y necesitamos poder romper esquemas que dicen es poco probable ver TVT cutáneo.

Por el contrario autores como Levy (2006), Park (2006), afirman que otras formas de transmisión son el olfateo y el lamido, que permiten la implantación de las células tumorales en zonas extragenitales, como vía nasal y oral, piel, ojo y conjuntiva, región perianal y escroto; datos que coincide con el estudio en los cuales se observaron que pacientes con TVT cutáneo mostraron metástasis en ojo y conjuntiva (4 canes).

Respecto a las edades de los canes con neoplasias de células redondas en piel y tejidos subcutáneos se distribuyó en 3 grupos dando como resultados que el grupo de 9 años a mas, años tiene mayor prevalencia con el 45.2%, seguido del grupo de 5 a 8 con 39.7 %; datos que coinciden con lo reportado por Muchas y otros, 2005; quienes sostienen que las neoplasias son comunes en perros gerontes, tienden a afectar a animales maduros con una edad promedio de 8 años. Esto se refleja que en la actualidad empezamos a ver una crianza responsable de las mascotas, llegan a tener gran cantidad de pacientes gerontes. Siendo los mastocitomas los de mayor número en este grupo (9 canes) dato que coincide con lo reportado por Moreno (2012), quien refiere que el mastocitoma es la neoplasia que más afecta a la especie canina y por Vail y Withrow (2014), quienes afirman que el mastocitoma, es el tumor cutáneo más frecuente en el perro.

También observamos un alto número de pacientes con TVT en el grupo de 0 a 4 y de 5 a 8 años (4 y 5 canes respectivamente), lo que concuerda con lo dicho por Mendoza (2006), quien reporta que la edad con mayor frecuencia de Tumor venéreo transmisible entre el año de vida y los 5 años, probablemente por la gran actividad sexual que desempeñan a esas edades. Esto se refleja en el alto número de perros callejeros, debido a que cuando llegan a la madurez muchos propietarios echan a la calle a sus mascotas.

Respecto a las neoplasias en piel y tejidos subcutáneo, según la raza se observó, que los perros mestizos, fueron los de mayor prevalencia con un promedio de 48.4%, seguido de los American pitbull con un 12.9%; estos datos se ven afectado por muchos factores y uno de ellos es el lugar del estudio, debido al alto porcentaje de perros mestizos en comparación con los de raza pura; lo que llama la atención es el alto número de neoplasias de piel y tejidos subcutáneos en la raza American pitbull, ya que autores como Fraile (2012), menciona en su tabla de predisposición racial a razas como Bóxer, Cocker spaniel, Dálmata, Bull terrier, Labrador, Pastor alemán, Boston terrier como las razas de mayor predisposición tumoral en piel y tejidos subcutáneos y no mencionan al American pitbull , dato a tener en cuenta, ya que sabemos que tumores de piel y tejidos subcutáneos como el mastocitoma tiene mucha relación con problemas de hipersensibilidad y el American pitbull es una raza que presenta alto número de atopias y alergias.

Por último los criterios de malignidad observados en los 58 canes durante el presente trabajo de investigación arroja un resultado de 96.8 % de células con más de 3 criterios de malignidad, (neoplasias malignas) y un 3.2 % de neoplasia benignas que es el único caso de un paciente con histiocitoma; dato que coinciden con lo descrito por Ogilvie (2008), quien menciona que el histiocitoma, es un tumor benigno, poco frecuente, que afecta a perros jóvenes y está compuesto por células de Langerhans. Por otro lado los resultados reflejan una oposición con lo dicho por Fraile (2012), quien afirma que del total de neoplasias cutáneas y subcutáneas, los tumores malignos oscilan entre el 30 a 40% en el perro. Al igual que Vail y Withrow (2014), quienes reportan que aproximadamente entre el 20 y el 40% de los tumores primarios de piel y tejidos subcutáneos, son histológicamente malignos. Esto se atribuye a que en otros países no hay una sobreexposición de las mascotas a medios hostiles, de radiación, maltrato, mal cuidado, incluso de infecciones virales

como en nuestro país; factores que pueden ser predisponentes para algunos orígenes de neoplasias.

## VI. CONCLUSIONES

- El diagnóstico citológico de masas cutáneas y subcutáneas desconocidas se hace mediante la punción y aspiración con aguja fina PAAF y tinción Wright es un método muy eficaz, rápido, poco invasivo y muy económico para el pronóstico e inclusive el diagnóstico de nuestros pacientes.
- La mayoría de neoplasias de células redondas son los mastocitomas y estas se dan en perros de edad avanzada, este dato puede ayudar a descartar neoplasias en perros jóvenes y junto a una citología poder dar un buen diagnóstico.
- Del total de neoplasias, el tumor venéreo transmisible, fue la segunda neoplasia con mayor prevalencia extragenital.
- Los mayores casos de neoplasias en piel y tejidos subcutáneos se presentaron en el grupo de canes gerontes de 9 años a más.
- Del total de canes analizados fue el American pitbull la segunda raza después del mestizo, con neoplasia en piel y tejidos subcutáneos.



## VII. RECOMENDACIONES

- Considerar a la citología como prueba auxiliar obligatoria para poder determinar el origen de masas en piel y tejidos subcutáneos de nuestros pacientes para brindar un correcto diagnóstico.
- Realizar estudios para evaluar eficacia de la terapia oncológica en *Canis familiaris* en las neoplasias más comunes como es el caso del mastocitoma.
- Investigar más de la raza american pitbull ya que en la literatura no se considera como una raza predisponente a neoplasias.
- Sensibilizar a la población en la tenencia responsable de mascotas para controlar la diseminación del tumor venéreo transmisible y sus consecuencias.

## VIII. BIBLIOGRAFIA

- ÁLVAREZ, F 2001. Veterinary oncology. México, 2011 (En línea).  
<https://plus.google.com/100304422605153946327> (Consulta: 20 febrero, 2015).
- BAKER, R. Y LUMSDEN, J. 2000. Color atlas of cytology of the Dog and Cat. Editorial. Mosby. United States of America. p. 3-5, 7-16, 43-46.
- COWELL, R; TYLER, R Y MEINKOTH, J. 1989. Diagnostic cytology of the dog and cat. American Veterinary publication. California, U.S.A. p.3-19, 33-38, 325-348.
- DE BUEN, N. 2001. Citología diagnóstica veterinaria. Editorial. Manual Moderno. México, D. F. p. 1- 6.
- DE BUEN, N.; GUZMÁN, M.; ORDOÑEZ, C. Y CHÁVEZ, G. 2008. Atlas de Dermatología Diagnóstica en perros y gatos. Editorial. Inter-Médica. Buenos Aires, Argentina. p. 112.
- DOBSON, J Y DUNCAN, B. 2014. Manual de oncología en pequeños animales. Editorial Sastre Molina. Tercera edición. Barcelona, España. p. 204
- EBERT, R. 2002. Cáncer en pequeñas mascotas, aspectos generales. En memorias del congreso anual de Bayer. Centro Médico siglo XXI. México, D.F. p. 109-120.
- FRAILE, O. 2012. Departamento de sanidad animal HCV.CV. El Burgo las rosas C.V. IF Villalba. Neoplasia cutánea en el perro y el gato. (En línea) <http://www.colvema.org/pdf/neoplasias.pdf>, consultado 12 de Oct. Del 2015.
- GARCÍA, L. 2014. Curso de oncología en pequeñas especies. Fisiopatología tumoral. UNAM. México, 2001. (En línea) <http://aidvet.com/wp-content/uploads/2010/05/Medicina-Veterinaria-Curso-de-Oncologia-Veterinaria.pdf>

- GUREL, A; KUSCU, B; GULANBER, E Y ARUN, S. 2002. Transmissible venereal tumours detected in the extragenital organs of dogs. Israel. Veterinary pathology P 30.
- MAZZOCCHIN, R. 2013. Neoplasias cutâneas em Cães. Tesis de Médico Veterinario. Facultad de veterinaria. Universidade Federal Do Rio Grande Do Sul. P. 49.
- MENDOZA, N. 2006. Frecuencia del tumor venéreo transmisible. Tesis de Médico Veterinario. Facultad de medicina Veterinaria. Univ. Nacional Mayor de San Marcos. Lima. Perú. P.32.
- MILLER, W 2002; GRIFFIN, C. Y SCOTT, D. 2002. Dermatología en pequeños animales. (6ta.Ed.) Editorial. Inter-Médica. Buenos Aires, Argentina. p. 1392-1393.
- MORENO, L. 2012. Neoplasias cutâneas comunes en caninos, diagnosticadas por medio de citología (Diff-quick) en el hospital docente veterinario "Cesar Augusto guerrero" de la universidad nacional de Loja y clínicas Veterinarias de la ciudad. Tesis de Médico Veterinario Zootecnista. Ecuador.
- MORRIS, J. Y DOBSON, J. 2002. Oncología en pequeños animales. Editorial. Inter-Médica. Buenos Aires, Argentina. p. 5-59, 203-212.
- MOULTON, J. 1990. Tumors in Domestic Animals. Third edition. Editorial. California. U.S.A. p. 1 - 5, 231 - 245, 498 - 501.
- MUCHA, C; SORRIBAS, C. Y PELLEGRINO, F. 2005. Consulta rápida en la clínica diaria. Editorial. Inter-Médica. Buenos Aires, Argentina. p. 641-682.
- NELSON, R; COUTO, G. 2005. Medicina interna de animales pequeños. 3ra. Ed. Editorial. Inter- Médica. Buenos Aires, Argentina. p.1453.
- LEVY, E; MYLONAKIS, M; SARIDOMICHELAKIS, M; POLIZOPOULOU, Z Y KOUTINAS, A. 2006. Nasal and oral masses in a dog. P 115-118.

- OGILVIE, G. Y MOORE A. 2008. Manejo del paciente canino oncológico. Editorial. Inter-Médica. Buenos Aires, Argentina. p. 123, 126-131, 418-446, 668-671, 813-828.
- PAPAZOGLU, L; KOUTINAS, A; PLEVRAKI, A Y TONTIS, D. 2001. Primary intranasal transmissible venereal tumour in the dog: A retrospective study of six spontaneous cases. P 391,392.
- PARK, M; KIM, Y; KANG, M; OH, S Y SHIN, N. 2006. disseminated transmissible venereal tumour in a dog. P. 130-133.
- PATERSON, S. 2009. Enfermedades de la piel en el perro. Segunda edición. Editorial. Inter-Médica. Buenos Aires, Argentina. p. 296.
- QUIROGA, G. 2014. Química-acti blogspot. México, En línea (<http://quimica-acti.blogspot.com/2014/10/tincion-de-wright.html>) documento, 5 de octubre, 2015.
- RANGEL, I. 2001. Toma de muestras cito-histopatológicas. (En línea).UNAM. México, 2001. <http://docplayer.es/9449288-Curso-de-oncologia-en-pequenas-especies.html> (Consulta: 25 noviembre, 2015).
- ROBBINS, S Y COTRAN, R. 1995. Patología estructural y funcional. Quinta edición. Editorial. Mc Graw-Hill Interamericana. Madrid, España .p.271-273, 280-283.
- VAIL, D Y WITHROW, S, 2014. Neoplasias específicas en pequeños animales. (En línea). [http://media.axon.es/pdf/71708\\_1.pdf](http://media.axon.es/pdf/71708_1.pdf) (consulta 10 de octubre del 2016).

## **IX. ANEXOS**



**Anexo 2.** Patrón de malignidad de células neoplásicas

Paciente	Edad	Raza
Criterios generales	Normal	Alterado
Celularidad		
Pleomorfismo		
Criterios nucleares		
Tamaño		
Forma		
Ratio n/c		
Nucleolo		
Pgc		
Desf.nucl.		
Fig.mitot.		
Mult. Nucl.		
Criterios citoplasmatico		
Basofilia		
Vacuolización		
Canibalismo		

**Leyenda:**

N/C: Núcleo/Citoplasma

PGC: Patrón Grueso de Cromatina

DESF. NUCL. : Deformación Nuclear

FIG. MITOT.: Figuras Mitóticas

MULT. NUCL. : Múltiples Núcleos