

LINFOMA CUTÁNEO NO EPITELIOTRÓPICO EN UN MASTÍN ESPAÑOL

P.J. Ginel, J. Pérez*, R. Lucena,
E. Mozos*

Departamento de Medicina y Cirugía Animal;
*Departamento de Anatomía y
Anatomía Patológica Comparadas.
Facultad de Veterinaria de Córdoba.
Campus de Rabanales.
Ctra. Madrid-Cádiz km 396;
14014 Córdoba.

RESUMEN.

El linfoma cutáneo no epiteliotrópico (LCNE) es un tumor poco frecuente, muy agresivo y de evolución rápida. En este trabajo se describe un caso de LCNE en un perro mastín español de 5 años de edad. El animal presentó inicialmente nódulos cutáneos múltiples y lesiones arciformes en la piel de costados y abdomen. Pocos días más tarde se observó diarrea y síntomas sistémicos inespecíficos como anorexia, apatía, hipertermia y rápido deterioro del estado general. En la exploración también se apreció linfadenopatía generalizada, dolor abdominal e hipovolemia moderada. El diagnóstico se confirmó mediante el estudio citohistopatológico e inmunohistoquímico de las lesiones cutáneas. Se inició un tratamiento sintomático pero el perro murió a los tres días de ser examinado. La necropsia demostró la existencia de múltiples metástasis en corazón, ganglios linfáticos subcutáneos y mesentéricos, mesenterio, intestino delgado, páncreas y vejiga urinaria.

Palabras claves: Linfoma; Perro; Inmunohistoquímica.

ABSTRACT.

Cutaneous non-epitheliotropic lymphoma is a rare tumour with an aggressive biological behaviour characterised by a rapid progression of the disease. In this article, a cutaneous non-epitheliotropic lymphoma is described in a 5-year-old Spanish Mastín dog. The dog first clinical signs were multiple cutaneous nodules and bilateral arciform lesions in both flanks and abdominal skin. Few days later, the patient developed diarrhea and non-specific signs such as inappetence, lethargy and hyperthermia. At examination the dog also showed poor body condition, generalised lymphadenopathy, abdominal pain and signs of mild hypovolemic shock. Diagnosis was confirmed by the cytohistopathological and immunohistochemical analyses. Symptomatic treatment was instated but the dog died three days after first examination. Necropsy revealed multiple metastases to the heart, subcutaneous and mesenteric lymph nodes, small intestine, mesenterium, pancreas and urinary bladder.

Key words: Lymphoma; Dog; Immunohistochemistry.

INTRODUCCIÓN.

Los tumores cutáneos representan el 30% de los tumores caninos y el 20% de los felinos⁽⁵⁾. Dentro de ellos se incluye el linfoma cutáneo, un tumor de células redondas, de escasa incidencia en el perro^(1, 10), que puede presentarse de forma primaria o secundaria, según se origine directamente en la piel o bien sea una metástasis de linfomas primarios de otros órganos⁽¹⁾. En el perro, los linfomas cutáneos primarios se presentan de dos formas clínica e histológicamente diferenciables: los linfomas cutáneos epiteliotrópicos (LCE) y los linfomas cutáneos no epiteliotrópicos (LCNE).

Ambas formas afectan, en su mayoría, a perros de edad avanzada. No se ha confirmado predilección por un sexo o raza^(1,14), aunque se ha descrito una mayor incidencia en Boxer, Pastor alemán y San Bernardo^(1,2). Los LCE están constituidos por linfocitos T neoplásicos con marcado epiteliotropismo, lo que da lugar a un acúmulo discreto de células tumorales dentro de la epidermis^(1, 5, 8, 12, 15). Los LCNE inicialmente se consideraban producidos por linfocitos tumorales tanto T como B que infiltran difusamente la dermis y el tejido subcutáneo^(4, 5).

Las formas no epiteliotrópicas son las menos frecuentes en el perro^(1, 14) y sus manifestaciones

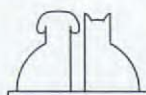




Fig. 1. Aspecto de un nódulo cutáneo. La zona central de la lesión estaba erosionada y cubierta por un exudado serohemorrágico. El pelo ha sido cortado.



Fig. 2. Varios nódulos de pequeño tamaño junto a una característica lesión de configuración arciforme en la piel del abdomen izquierdo.



Fig. 3. Abdomen derecho. Detalle de lesión en forma de herradura. Se aprecia el eritema y la marcada elevación de los bordes.

CASO CLÍNICO.

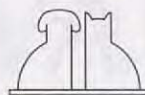
Un perro mastín español, macho, de 5 años de edad, se presentó en la consulta de dermatología por la aparición aguda de lesiones cutáneas asociadas con diarrea, anorexia y depresión desde hacía una semana. En la exploración general se apreció hipertermia, astenia y dolor a la palpación abdominal. En la piel, destacó la presencia de nódulos múltiples generalizados, cutáneos y/o subcutáneos, con un tamaño que oscilaba entre los 0,5 y 4,5 cm de diámetro, cubiertos por piel normal y apreciables sólo por palpación. En algunas áreas confluían para formar placas extensas, y en otras aparecían erosionados y cubiertos por un exudado serohemorrágico (Fig. 1). En la piel del abdomen y flancos destacaban varias lesiones de gran tamaño, eritematosas, de bordes elevados y con una llamativa configuración arciforme (Figs. 2 y 3).

Las muestras obtenidas por aspiración con aguja fina mostraron una población homogénea de células redondas, de mediano tamaño y de morfología linfoide; ocasionalmente se observaron neutrófilos no degenerados. El carácter tumoral de los linfocitos era más evidente a mayores aumentos; se caracterizó por núcleos grandes, vesiculosos, con varios nucleolos indicativos de un alto grado de actividad metabólica (Fig. 4). No se observaron bacterias ni otros posibles agentes etiológicos externos. El hemograma y la bioquímica sanguínea fueron normales, así como el trazado electroforético y los niveles de gammaglobulinas.

Con el fin de confirmar el carácter neoplásico de las lesiones se tomaron biopsias de las lesiones cutáneas. Por condicionantes del propietario, el

clínicas son variadas, aunque es constante la aparición aguda de nódulos solitarios o múltiples. Ocasionalmente se han descrito lesiones de eritroderma exfoliativa, lesiones ulcerativas en la mucosa oral y prurito^(1, 12). La mayoría de casos cursan con manifestaciones sistémicas típicas de los linfomas, que aparecen bien en las primeras etapas de la enfermedad o bien cuando se desarrollan las lesiones cutáneas⁽⁵⁾. Son tumores muy agresivos, que progresan con gran rapidez tras la aparición inicial de la lesión. El tratamiento tradicional mediante quimioterapia o inmunoterapia es poco efectivo^(1, 5, 10). Así, la quimioterapia combinada no parece alargar el periodo de supervivencia del animal, que se cifra en una media de 1,8 meses desde la aparición de las lesiones cutáneas. El tratamiento quirúrgico es viable en casos de lesiones localizadas pero sólo excepcionalmente se consigue la remisión a largo plazo o la curación⁽¹⁾. El pronóstico de este tipo de linfoma es grave^(1, 14).

Este trabajo ilustra las lesiones cutáneas características del LCNE en un perro mastín español de mediana edad.



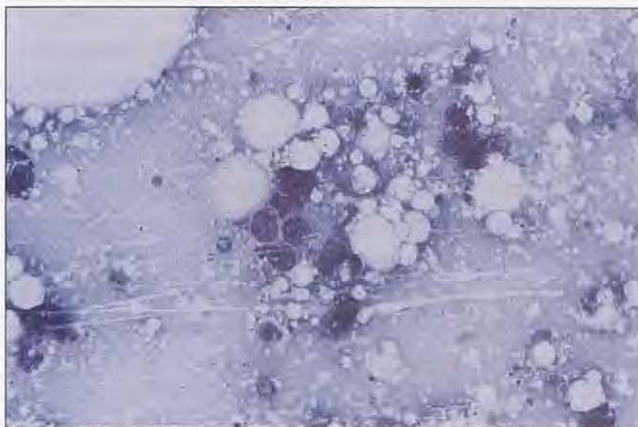


Fig. 4. Aspiración con aguja fina de uno de los nódulos. Células tumorales, redondas y de aspecto linfoide.

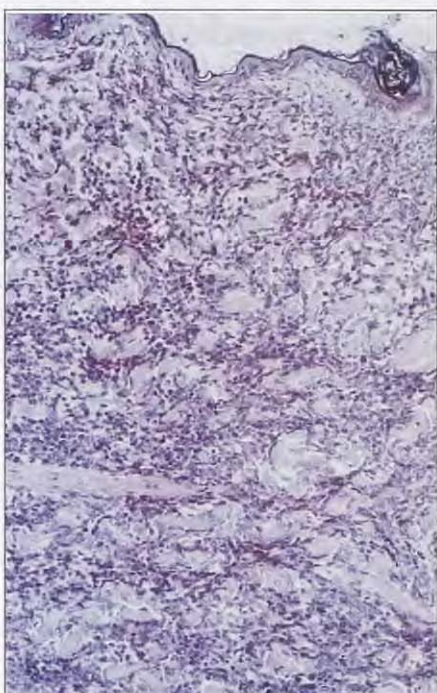


Fig. 5. Infiltración difusa de células linfoides neoplásicas en dermis superficial y profunda sin afectar a epidermis. Hematoxilina-eosina, x100.

animal no pudo ser hospitalizado y en espera de la confirmación del diagnóstico se instauró un tratamiento provisional a base de fluidoterapia, cefalexina (20 mg/kg/12h) y prednisona (1 mg/kg/d). A pesar del tratamiento el estado del animal empeoró rápidamente y murió a los tres días de ser examinado.

MATERIAL Y MÉTODOS.

Las muestras obtenidas en las biopsias cutáneas y en la necropsia se fijaron en formol tamponado al 10% durante 24 horas y se incluyeron en parafina. Para el estudio estructural los cortes se tiñeron con las técnicas de hematoxilina-eosina y Giemsa. Para el estudio inmunohistoquímico se empleó la técnica del complejo avidina-biotina-peroxidasa (ABC) y los siguientes anticuerpos:

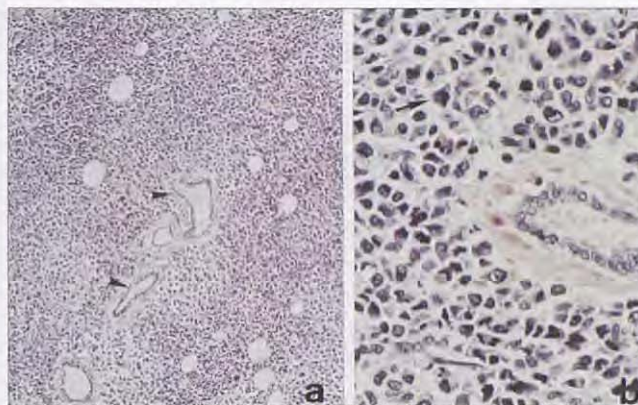
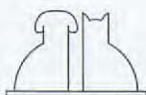


Fig. 6. a) Masiva infiltración difusa de células tumorales en dermis profunda, ocupando parcialmente el tejido adiposo y comprimiendo a las glándulas sudoríparas apocrinas (▶). x200. b) Detalle en el que se aprecia la morfología irregular de las células neoplásicas, algunas de las cuales muestran diferenciación plasmática (→), x400. Hematoxilina-eosina.

anti-CD3 humano (Linfocitos T) (diluido al 1:300), anti-cadenas ligeras de λ -IgG humana (λ -IgG) (diluido al 1:1500) y anti-CD79 humano (Linfocitos B) (diluido al 1:50). Los tres anticuerpos fueron obtenidos de los laboratorios Dako (Glostrup, Dinamarca) y en los tres se ha descrito reacción con antígenos caninos (Ferrer *et al.*, 1993, Milner *et al.*, 1996, Fournel-Fleury *et al.*, 1997). Como anticuerpos secundarios y reactivo terciario se utilizó un kit prediluido de los laboratorios Vector (Burlingame, CA, USA). Como controles positivos se utilizaron cortes de ganglios linfáticos caninos normales. Como controles negativos se emplearon cortes seriados en los que los anticuerpos policlonales anti-CD3 y anti cadenas ligeras lambda-IgG fueron sustituidos por suero no inmune de conejo, y el anticuerpo monoclonal anti-CD79 humano fue sustituido por suero no inmune de ratón.

RESULTADOS.

El estudio histopatológico de las biopsias cutáneas confirmó la infiltración masiva y difusa de células linfoides neoplásicas desde la dermis superficial hasta el tejido subcutáneo y desplazando o comprimiendo a los folículos pilosos y glándulas sebáceas de la zona (Fig. 5). En algunas áreas la epidermis mostraba ulceración e infiltrado local de neutrófilos. En ninguna de las muestras se observó infiltración de la epidermis por células neoplásicas. En cuanto a las características de las células tumorales, éstas eran redondeadas o poliédricas, con morfología y tamaño variable; el núcleo era esférico o escotado y vesiculoso, frecuentemente con dos o más nucleolos muy evidentes (Fig. 6). El citoplasma era de tamaño



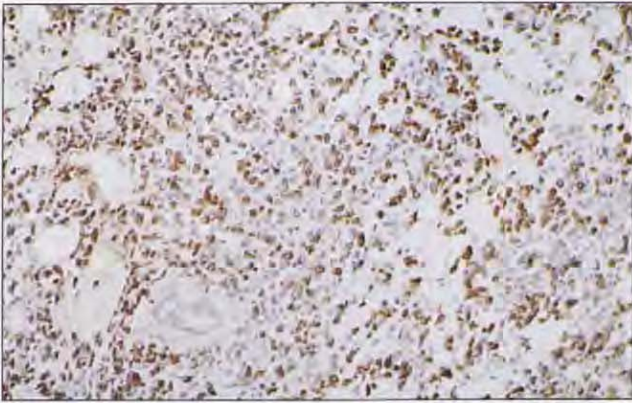


Fig. 7. λ -IgG. La mayoría de las células tumorales localizadas en dermis profunda presentan intensa inmunorreacción. ABC. x200.

variable, acidófilo o anfófilo. Algunas células neoplásicas eran de pequeño tamaño, núcleo esférico y muy basófilo y citoplasma escaso. De forma ocasional algunas células tumorales presentaban características similares a células plasmáticas. El índice mitótico era elevado en la mayoría de las muestras analizadas. En áreas intratumorales se observaron con frecuencia células neoplásicas en necrosis, aisladas o en pequeños grupos. El patrón histopatológico de las lesiones cutáneas coincidió con el de un linfoma cutáneo no epiteliotrópico. Las características cito-histológicas de las células tumorales coincidieron con las descritas para los linfomas inmunoblásticos de alto grado de malignidad⁽⁷⁾.

En la necropsia del animal se apreció que las lesiones cutáneas no sólo afectaban a la piel, sino que de forma difusa invadían tejido subcutáneo y frecuentemente planos musculares de la pared abdominal. Al corte, estas lesiones eran de consistencia media, uniformes, de color blanco-grisáceo con focos hemorrágicos ocasionales. Los ganglios linfáticos subcutáneos y mesentéricos presentaban un gran aumento de tamaño y coloración homogénea blanco-grisácea al corte. En epicardio se observaron numerosos nódulos blanquecinos de 0,2-1 cm de diámetro, algunos de los cuales afectaban también al miocardio. En el mesenterio y la serosa de intestino delgado, en páncreas y en la pared de vejiga urinaria también se observaron múltiples nódulos de 0,2-2 cm de diámetro, que a veces confluían para formar lesiones mayores. No se observaron lesiones macroscópicas en el resto de órganos.

El estudio histopatológico de las lesiones cutáneas confirmó los hallazgos de las biopsias previas. En epicardio y miocardio, ganglios linfáticos mesentéricos y subcutáneos, páncreas, mesenterio y en la pared de intestino delgado y de vejiga urinaria se observó una invasión masiva y difusa

de células neoplásicas de características morfológicas similares a las descritas en las lesiones cutáneas. El bazo mostró una discreta deplección de linfocitos maduros.

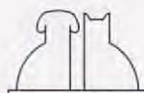
En el estudio inmunohistoquímico las células neoplásicas, en una proporción superior al 60%, presentaron una intensa inmunotinción citoplasmática, principalmente en la membrana celular, frente al anticuerpo λ -IgG (Fig. 7). Con los anticuerpos CD3 y CD79 no se observó inmunorreacción de las células tumorales.

DISCUSIÓN.

El LCNE del perro es una entidad bien conocida en dermatología veterinaria y citada con frecuencia en estudios retrospectivos sobre problemas linfoproliferativos del perro^(6, 13, 14). Sin embargo, y al contrario de lo que ocurre con el LCE o micosis fungoides, son muy escasos los estudios que describan de forma detallada los aspectos clínicos del tumor^(1, 9). El principal interés de este trabajo es ilustrar las lesiones cutáneas características del LCNE. También puede destacarse la descripción, por primera vez, del LCNE en la raza mastín español y a una edad inferior a la descrita habitualmente⁽¹⁾.

Los linfomas cutáneos representan el 3-8% de todos los linfomas del perro. El LCE es la forma más frecuente y existen numerosos casos clínicos publicados^(1, 8, 10). Las lesiones cutáneas son variables e incluyen eritema, nódulos, placas, descamación, pápulas y ulceración en piel y mucosas; también puede haber prurito⁽¹⁾. Las manifestaciones del LCNE son menos variadas; Beale y Bolon (1993) describieron la aparición de nódulos y úlceras en el 100% y 55,6% respectivamente de una serie de 9 casos. El resto de lesiones descritas en el LCNE (placas, eritema y descamación) así como el prurito, se presentaron de forma ocasional. Coincidiendo con esta descripción, las lesiones cutáneas en este caso clínico se limitaron a nódulos múltiples en ocasiones ulcerados. Tampoco hubo afección de mucosas ni prurito y, como es característico del LCNE, el desarrollo de lesiones cutáneas fue seguido de la aparición de síntomas sistémicos inespecíficos^(5, 10, 12, 14).

Las lesiones cutáneas más llamativas de este caso se caracterizaron por su configuración arciforme o en herradura con bordes elevados. En algunos casos de LCE se han descrito lesiones anulares de bordes elevados, mientras que sólo en un caso de LCNE se presentaron lesiones nodula-



res de configuración serpiginosa⁽¹⁾. Estas lesiones son similares a las observadas en nuestro caso y dada su particular morfología puede atribuírseles un alto valor diagnóstico en la clínica del linfoma cutáneo primario.

Las manifestaciones sanguíneas del linfoma son escasas^(1, 10, 14). Aunque el LCNE es una neoplasia de linfocitos tipo B, en pocas ocasiones se ha descrito su asociación con gammopatías monoclonales o policlonales^(9, 14). En nuestro caso, el hemograma y la bioquímica sanguínea no revelaron ningún dato de interés, y tanto los niveles de gammaglobulinas como el trazado electroforético fueron normales.

La citología es un medio rápido para apoyar un diagnóstico provisional de linfoma cutáneo, aunque el diagnóstico definitivo requiere del estudio histopatológico de las lesiones. La citología reveló una población homogénea de células redondas de mediano tamaño y de morfología linfoide. La caracterización inmunofenotípica de los linfomas caninos ha sido difícil al no disponerse de anticuerpos específicos para el perro⁽¹⁴⁾. Sin embargo, actualmente existen en el mercado anticuerpos monoclonales que reaccionan con los linfocitos T caninos^(3, 14). Mediante estos anticuerpos, se sabe que la mayor parte de los linfomas son de células B, mientras que los linfomas tipo T representan del 10-38% del total de casos⁽¹⁴⁾.

El inmunofenotipo del linfoma descrito en el presente estudio (CD3-, CD79- y λ-IgG+) es poco común, ya que entre los linfomas malignos centrolblásticos e inmunoblásticos considerados como linfomas de células B, el 82,7% expresan el antígeno CD79, y el 65,5% expresaron IgM de

superficie. La ausencia del antígeno CD79 en dichos linfomas caninos, así como en linfomas de células B humanos^(2, 7, 11), se ha asociado a una diferenciación plasmocitaria o inmunoblástica con elevada expresión de inmunoglobulinas de superficie. Estos hallazgos coinciden con los observados en nuestro caso, ya que se trataba de un linfoma maligno inmunoblástico CD79-, con una elevada expresión de IgG de superficie, aunque la diferenciación plasmática sólo se apreció en algunas áreas del tumor. Estos resultados contrastan con los observados en otro estudio sobre LCNE, donde 8 de 10 linfomas expresaron CD3 y sólo uno λ-IgG⁽⁴⁾.

La rápida evolución clínica y el carácter agresivo demostrado por el tumor son también característicos del LCNE⁽¹⁾. Las lesiones cutáneas tuvieron un curso agudo y la evolución se completó en sólo dos semanas. El tratamiento de los linfomas cutáneos se basa en la quimioterapia salvo que se presenten lesiones nodulares únicas. En general, el pronóstico del LCNE es más grave que el del LCE. En una serie de 9 casos, no se obtuvo respuesta a la quimioterapia y tampoco se consiguió prolongar significativamente el periodo de supervivencia del animal⁽¹⁾.

En conclusión, el linfoma cutáneo no epiteliotrópico es un tumor de escasa incidencia en el perro. Las lesiones en forma de herradura junto con la aparición de nódulos múltiples pueden considerarse de gran valor diagnóstico, aunque se requiere el análisis citohistopatológico para su confirmación. La rápida evolución de estos tumores linfoides junto con la escasa respuesta al tratamiento hacen que el pronóstico del LCNE sea muy grave.

BIBLIOGRAFÍA.

1. Beale KM, Bolon B. Canine cutaneous lymphosarcoma: Epitheliotropic and non-epitheliotropic, a retrospective study. En: Irhke, PJ (Ed.): *Advances in Veterinary Dermatology II*, Pergamon press. New York, 1993: 273-283.
2. Cangul IT, Teske E, Van den Ingh TSGAM. Immunohistochemical staining results of frozen and paraffin embedded sections of 14 canine malignant lymphoma cases: a comparative study. *Eur J Vet Pathol* 1998; 4: 17-22.
3. Caniatti M, Roccabianca P, Scanziani E, Paltrinieri S, Moore PF. Canine lymphoma: immunocytochemical analysis of fine-needle aspiration biopsy. *Vet Pathol* 1996; 33: 204-212.
4. Day MJ. Immunophenotypic characterization of cutaneous lymphoid neoplasia in the dog and cat. *J Comp Path* 1995; 112: 79-96.
5. Dobson JM, Gorman NT. Un enfoque clínico al tratamiento de tumores cutáneos en el perro y el gato. *Vet Rec* 1990; 127: 317-325.
6. Ferrer L, Fondevila D, Rabanal R, Tarres J, Ramis A. Immunohistochemical detection of CD3 antigen (pan T marker) in canine lymphomas. *J Vet Diagn Invest* 1993; 5: 616-620.
7. Fournel-Fleury C, Magnol JP, Bricaire P, Marchal T, Chabanne L, Delverdier A, Bryon PA, Felman P. Cytohistological and immunological classification of canine malignant lymphomas: Comparison with human non-Hodgkin's lymphomas. *J Comp Path* 1997; 117: 35-59.

8. Gilbert S, Clercx C, Jauniaux T, Henroteaux M. Lymphome T cutané épithéliotrope chez trois chiens. *Ann Méd Vét* 1994; 138: 587-595.
9. Jacobs RM, Couto CG, Wellman ML. Biclinal gammopathy in a dog with myeloma and cutaneous lymphoma. *Vet Pathol* 1986; 23: 211-213.
10. Laporta M, Manubens J. Linfosarcoma cutáneo: a propósito de un caso. *Clín Vet Peq Anim* 1993; 13: 174-178.
11. Mason DY, Cordell JL, Tse AGD, Van Dongen JJM, Van Noesel CJM, Micklem K, Pulford KAF, Valensi F, Comans-Bitter WM, Borst J, Gatter KC. The IgM-associated protein mb-1 as a marker of normal and neoplastic B cells. *J Immunol* 1991; 147: 2474-2482.
12. Ogilvie GK (Ed). *Clinical veterinary oncology: A student handbook*. Colorado State University. Fort Collins, Colorado, 1995: 336.
13. Ruslander DA, Gebhards DH, Tompkins MB, Grindem CB, Page RL. Immunophenotypic characterization of canine lymphoproliferative disorders. *In vivo* 1997; 11: 169-172.
14. Teske E. Canine malignant lymphoma: A review and comparison with human non-Hodgkin's lymphoma. *Vet Quarterly* 1994; 16: 209-219.
15. Tobey JC, Houston DM, Breur GJ, Jackson ML, Stubbington DA. Cutaneous T-cell lymphoma in a cat. *J Am Vet Med Assoc* 1994; 204: 606-609.

