

Linfoma alimentario felino: inmunofenotipo, quimioterapia y evolución de 9 casos clínicos

Se describe la clínica, histopatología e inmunofenotipo de 9 gatos cuyo diagnóstico final fue de linfoma alimentario. Los linfomas linfocíticos se trataron con un solo agente quimioterápico, mientras que en los linfoblasticos se utilizó un protocolo multiagente. La mayoría fueron estadio III, de baja-media intensidad y fenotipo B. Las diferencias obtenidas en la supervivencia de los gatos podrían ser significativas si la población estudiada fuera mayor.

Palabras clave: linfoma alimentario, gato, inmunofenotipo, quimioterapia.
Clin. Vet. Peq. Anim, 28 (2): 109-114, 2008

D. Esteban

Tot Cat Clínica Felina
C/ Aribau 103
08036 Barcelona

Introducción

El linfoma es la neoplasia más frecuente en el gato^{1,2}, contando con una incidencia de 200 casos por cada 100.000 gatos¹, o el 25 a 33% de las neoplasias malignas del gato⁶, según estudios. La vacunación frente al virus de la leucemia felina (VLF_e) ha ocasionado un cambio en la presentación del linfoma felino. El VLF_e se relacionaba con frecuencia con linfomas mediastínicos en gatos jóvenes, mientras que en la actualidad el linfoma se da con más frecuencia en gatos mayores, sin el VLF_e, y su presentación más habitual es la alimentaria¹. Incluso se ha investigado la presencia de retrovirus mediante PCR³. Existen varias clasificaciones del linfoma según la clínica o localización anatómica, histopatológica e inmunofenotípica. De forma general, en la especie felina se diagnostican linfomas que se asemejan al no-Hodgkin en humanos, cuyo inmunofenotipo suele ser T y cuya respuesta al tratamiento es mala². Cuando se aplican las clasificaciones establecidas para linfoma en humanos, como la "US National Cancer Institute Working Formulation" (NCI- WF) y la "Revised European-American Lymphoma (REAL)/revised WHO classification", se incluye el inmunofenotipo¹¹ e incluso hay estudios que lo consideran pronóstico¹. El linfoma alimentario felino es con más frecuencia tipo B^{1-3,11} y en muchos casos su tratamiento conlleva largos tiempos de supervivencia, sobre todo en el "linfoma linfocítico de linfocitos pequeños". Cuando el linfoma alimentario se halla localizado en un segmento intestinal (Fig. 1), el tratamiento de elección será, en primer lugar, quirúrgico². De no ser localizado, entre los distintos tratamientos médicos descritos, algunos autores recomiendan el uso de protocolos monoagente (un quimioterápico más prednisona) para linfomas linfocíticos o de baja intensidad, mientras que para los linfomas linfoblasticos se recomiendan los multiagentes⁷. El pronóstico del linfoma alimentario ha sido objeto de varios de los estudios, prospectivos¹² y retrospectivos¹. En el presente estudio se describe una población reducida de gatos con linfoma alimentario, a los que se les diagnosticó en distintos estadios clínicos, grados histopatológicos y distintos inmunofenotipos y prescrito dos posibles tratamientos.



Material y métodos

El estudio retrospectivo evalúa 9 casos, 4 gatos y 5 gatas a los que se les diagnosticó linfoma alimentario, en la clínica Tot Cat, entre los años 2003 y 2007. Para el estudio se determinó el



Figura 1. Linfoma intestinal localizado.

inmunofenotipo de todos los casos. La edad media de presentación fue de 11,4 años. 7 gatos eran europeos y 2 siameses. Se presentaron por anorexia, vómitos, diarrea y/o pérdida de peso de 112 días de duración de media (Tabla 1). Se obtuvieron muestras de sangre y orina para su examen. Se realizó ELISA (Idexx Snap Kombi Plus) para el VLFe y VIF. Dentro de las pruebas de imagen, la ecografía abdominal se realizó en todos los casos y en otros se complementó con radiografías con o sin contraste. El diagnóstico definitivo se obtuvo mediante biopsia de todo el grosor de la pared intestinal o gástrica, tras laparotomía exploratoria. También se biopsiaron ganglios mesentéricos, bazo, páncreas, hígado o ganglios no mesentéricos según el caso. Cuando se habla de linfoma alimentario, nos referimos a la infiltración por linfocitos/ linfoblastos neoplásicos del tracto gastrointestinal y ganglios linfáticos regionales y, en algunos casos, del hígado y/o bazo¹. Los tratamientos

Caso nº	Edad	Raza	Sexo	Duración de signos (días)	Signos clínicos
1	12	Europeo	M	150	Vómitos
2	11	Europeo	M	7	Anorexia y vómitos
3	11	Siamés	H	60	Vómitos
4	12	Europeo	H	30	Vómitos y diarrea
5	10	Europeo	M	365	Vómitos
6	12	Europeo	M	210	Diarrea
7	11	Europeo	H	90	Vómitos
8	10	Europeo	H	70	Diarrea
9	14	Siamés	H	30	Vómitos

Tabla 1. Anamnesis

Semana	Tratamiento
1	Vincristina (0,025 mg/Kg IV) + L-asparaginasa (400 UI/Kg IM) + Prednisona (5 mg PO cada 12 horas)
2	Ciclofosfamida (10 mg/Kg IV) + Prednisona (5 mg PO cada 12 horas)
3	Doxorrubicina (20 mg/m ² IV) + Prednisona (5 mg PO cada 12 horas)
4	Vincristina (0,025 mg/Kg IV) + Prednisona (5 mg PO cada 12 horas)
5	Ciclofosfamida (10 mg/Kg IV) + Prednisona (5 mg PO cada 12 horas)
6	Doxorrubicina (20 mg/m ² IV) + Prednisona (5 mg PO cada 12 horas)
8	Vincristina (0,025 mg/Kg IV) + Prednisona (5 mg PO cada 12 horas)
10	Ciclofosfamida (10 mg/Kg IV) + Prednisona (5 mg PO cada 12 horas)
12	Vincristina (0,025 mg/Kg IV) + Prednisona (5 mg PO cada 12 horas)
14	Metotrexato (0,8 mg/Kg IV) + Prednisona (5 mg PO cada 12 horas)
Siguientes semanas	Se continúa el protocolo como de la 8 ^a a la 14 ^a semana, hasta los seis meses, cuando si el gato sigue en remisión completa se interrumpe el tratamiento.

Tabla 2. Protocolo CVTX¹³

se establecieron, tras la emisión del diagnóstico, según clasificación clínica e histológica del linfoma y la aceptación del propietario del protocolo propuesto. En el caso 2 no se llevó a cabo la quimioterapia por la rápida evolución del linfoma, en el 6 el propietario no administró la medicación prescrita, recibiendo ambos sólo prednisona. Del resto se pueden agrupar en quimioterapia multiagente, basada en el protocolo CVT X (Tabla 2), o monoagente con clorambucilo (2 mg/gato VO, cada 3-4 días) o lomustina (10 mg/gato VO cada 6 semanas), además de prednisona (5 mg/gato VO cada 12h). Cuando los signos clínicos desaparecieron por completo se consideró remisión completa (RC) y se cuantificó el tiempo en el que permaneció cada gato (TRC). También se realizaron medias de TRC, denominándolo tiempo de remisión medio (TRM). En los casos en los que recidivaron los signos durante el tratamiento, se utilizó lomustina (10 mg VO cada 6 semanas), también denominada CCNU, como rescate. Se realizaron controles analíticos previos a cada sesión, fuera monoagente o multiagente. A los seis meses de tratamiento, en los casos 1, 3 y 7 se determinó la cobalamina sérica. El diagnóstico inmunohistoquímico se obtuvo a posteriori en 7 de los 9 casos, incluyendo CD3, CD79, MHC-II, cadenas lambda, cadenas kappa, y Ki67. Se procesaron secciones histológicas en parafina de 4 mm, se tiñeron con hematoxilina y eosina (Fig. 2) y con avidina-biotina-peroxidasa con 5 anticuerpos primarios (Fig. 3). Los anticuerpos utilizados fueron CD3 policlonal a una dilución 1/50, CD79 \square HM57 a una dilución 1/100, cadenas \square y \square policlonales a una dilución 1/5000 y Ki-67 MIB-1 a la dilución 1/100. Excepto CD79 \square que se incubó a 121°C en EDTA a pH 8, el resto se incubó a 121°C en Citrato a pH 5.

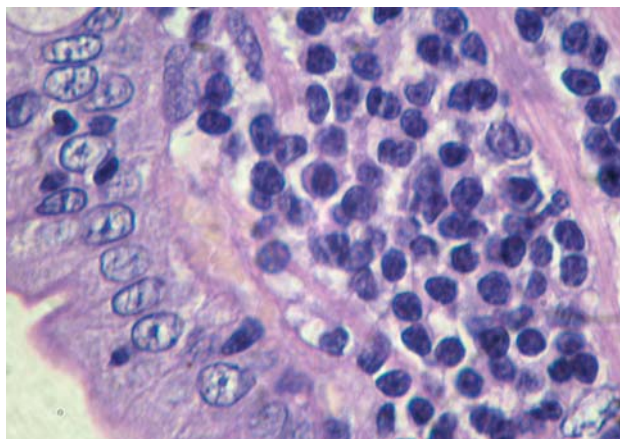


Figura 2. Tinción hematoxilina-eosina de linfoma intestinal.

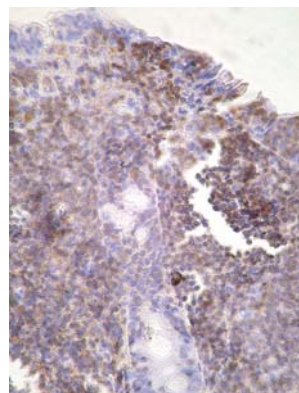


Figura 3. Tinción avidina-biotina-peroxidasa de linfoma T. En marrón linfocitos CD3+.

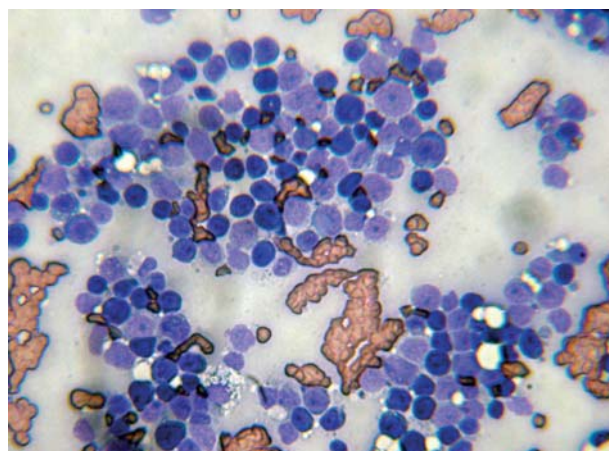


Figura 4. Citología compatible con linfoma (PAF ecoguiada).

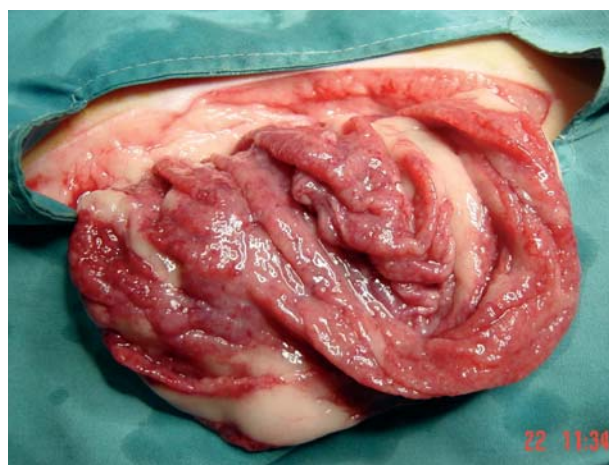


Figura 5. Metástasis a epíplon de linfoma B (caso 2).

Resultados

El conjunto de los 9 gatos no mostró alteraciones significativas en hemograma, bioquímica sérica, urianálisis ni proteinograma. En la ecografía abdominal se demostró aumento significativo del grosor de la pared intestinal y/o gástrica, además de linfadenopatía mesentérica, en 8 de los 9 gatos. En cada gato se obtuvieron citologías por punción con aguja fina ecoguiada (Fig. 4). En el que no se observaron dichos cambios (caso 2) se apreció hiperecoogenicidad generalizada de área abdominal craneal, siendo el diagnóstico definitivo linfoma B intestinal (yeyuno) con metástasis generalizada en epíplon (Fig. 5). La metástasis transcelómica a epíplon del linfoma alimentario del caso 2, se originó en un tramo de 1 cm de yeyuno, el resto de los órganos biopsiados no presentaron infiltración. El resultado del ELISA para VIF y VLFe fue negativo en el 100% de los casos descritos. El estadio clínico fue IIIb en el 66% de los casos, IIIa en el 23% y IVb en el 11%. La clasificación histológica fue de leve a moderada en 7 casos (77%) y grave en 2 (23%). En la inmunohistoquímica fueron un 55% linfoma B, un 22% T y un 22% mixto (Tablas 3 y

Caso nº	Clasificación clínica	Clasificación histopatológica	Clasificación inmunofenotípica
1	IIIa	Leve	T
2	IIIb	Grave	B
3	IIIb	Moderado	Mixto
4	IIIb	Leve	B
5	IIIb	Moderado	B
6	IIIa	Leve	Mixto
7	IIIb	Leve	T
8	IVb	Moderado	B
9	IIIb	Grave	B

Tabla 3. Diagnóstico.

Caso nº	CD3 (G/I)	CD79 (G/I)	Cadenas (G/I) □	Cadenas (G/I) □	Ki-67 (G/I)	MHCII	Diag.
1	++/+++	+/+	+/++	±/+	+++/>+++	n.e.	T
2	n.e./-	n.e./-	n.e./+	n.e./n.e.	n.e./n.e.	+	B
3	+++/>n.e.	+++/>n.e.	+/>n.e.	±/>n.e.	+++/>n.e.	n.e.	Mixto
4	++/+++	+++/>++	+/>+++	+/>+	+++/>++	n.e.	B
5	++/+++	+++/>++	++/+++	±/>+	+++/>+++	n.e.	B
6	++/+++	+++/>++	++/++	±/>++	+++/>+++	n.e.	Mixto
7	+++/>+++	+/>±	+/>+	+/>+	+++/>+++	n.e.	T
8	+++/>++	++/++	++/+++	++/+	+++/>++	n.e.	B
9	n.e./+	n.e./+++	n.e./+	n.e./+	n.e./+++	+	B

Tabla 4. Estudio inmunohistoquímico(±: escasas; +: bajo número; ++:moderado; +++:abundante). N.e.=no evaluado.

Caso nº	Tratamiento	TRC (días)	Rescate	Supervivencia (días)	Causa de la muerte
1	PC	330	CCNU	Vive (330)	
2	P	0	No	14	Eutanasia
3	CVTX	280	CCNU	330	Linfoma
4	PC	450	CCNU*	Vive (450)	
5	PC	240	No	450	Linfoma
6	P	480	No	Vive (480)	
7	CVTX	160	CCNU	390	Linfoma
8	CVTX	0	No	210	Linfoma
9	CVTX	0	No	40	Linfoma

Tabla 5. Tratamiento y evolución.

(TRC= tiempo de remisión completa. P=prednisona. PC=prednisona+ clorambucilo. CVTX13= vincristina, l-asparaginasa, ciclofosfamida, doxorubicina, metotrexato, prednisona. CCNU=lomustina. CCNU*=lomustina como tratamiento para 2ª neoplasia)

4). En la mayoría de gatos se obtuvo remisión completa (66%). El tiempo de remisión medio (TRM) fue de 297 días, de los que se consideran un tiempo de remisión completa medio de 215 días. El TRM para los IIIa fue de 405 días, en los IIIb 276 días y en el IVb 210 días. En la histopatología el TRM para los gatos clasificados como leves fue de 427 días, como moderados 330 días y como graves 20 días. El TRM en los B fue de 230 días, en los T de 360 días y en los mixtos de 405 días. El grupo tratado con quimioterapia monoagente obtuvo un tiempo de remisión medio de 341 días, el grupo tratado con quimioterapia multiagente 242 días (Tabla 5).

Discusión

Conociendo de antemano las limitaciones del estudio debidas al reducido número de casos incluidos, cabe destacar que éstos aportan similitudes considerables a las conclusiones de estudios anteriores, aunque también existen diferencias.

En la bibliografía revisada sólo destacan como alteraciones analíticas la hipoalbuminemia y la hipocobalaminemia^{7,9}. En Tot Cat la cobalamina se utilizó, a los seis meses de tratamiento, como dato adicional para decidir si el gato seguía en remisión completa o no.

En las pruebas de imagen, el engrosamiento de la pared intestinal o gástrica, además de la detección de linfadenopatía mesentérica, no supuso el diagnóstico final de linfoma, pero sí, junto al resto de datos, un motivo para recomendar la PAF y más adelante la biopsia de todo el grosor. En la ecografía incluso puede llegar a apreciarse un engrosamiento de la capa muscular¹⁰. En la bibliografía se suele preferir la biopsia quirúrgica a la endoscópica para la diferenciación del linfoma y la enfermedad inflamatoria intestinal^{12,14}.

En cuanto a retrovirus, en los estudios con un número considerable de gatos, están presentes ambos. Incluso se tuvo en cuenta, en un estudio, en relación al pronóstico y respuesta al tratamiento^{3,9}. En cuanto al efecto en la prevalencia y pronóstico del VIF o el VLFe, cabe destacar que en Australia no existe, en el mismo periodo de tiempo, el VLFe en la medida que estaba en Estados Unidos de América, causando diferencias reflejadas en los estudios que hacen prever que en España, tras la implantación de la vacunación frente al VLFe, se asemejarán los datos a los de Australia.

Los resultados obtenidos demuestran una mayoría de linfomas B. En casi todos los estudios previos, donde se determinó el fenotipo, el B es mayoritario^{1-3,11}. Los porcentajes en el fenotipo se corresponden con la bibliografía, así como los tiempos de remisión y el porcentaje de gatos que responden al tratamiento. Lo que no se corresponde con otros estudios es la clasificación histológica, que suele ser mayoritariamente moderada a grave en lugar de leve a moderada. Así mismo, dos colectivos científicos, la NCI- WF y la REAL/revised WHO, establecieron sendas clasificaciones

para el linfoma en humanos que han sido también aplicadas al gato^{4,5}. La inmunohistoquímica no supuso, en los casos descritos, un criterio para emitir un mejor pronóstico ni elegir el tratamiento, al ser realizada a posteriori. Se tuvo en cuenta en todos los casos, para decidir el tratamiento, el factor socio-económico del propietario. En los casos en los que no influyó, se propuso la quimioterapia monoagente en los linfomas leves o moderados (linfomas linfocíticos) y la multiagente en los moderados-graves (linfomas linfoblásticos). Aún tratándose de protocolos menos agresivos a priori, los gatos con linfomas leves a moderados, tratados con clorambucilo o lomustina, obtuvieron remisiones duraderas. Además, en todos los casos en los que la lomustina se utilizó como rescate, se obtuvo una nueva remisión. La lomustina se demostró efectiva en el tratamiento de tumores en gatos⁸, sin presentar los efectos tóxicos (hepáticos, hemáticos) descritos en humanos o el perro. También cabe destacar que, la inclusión de la doxorubicina en el protocolo multiagente para linfoma, supuso un aumento significativo de TRC y supervivencia^{2,6}.

La diferencia entre los tiempos de remisión medios en los diferentes fenotipos, no es significativa por estar únicamente representados por dos gatos el T, dos el mixto y 5 del B; aun así cabe remarcar que el fenotipo T no conlleva peor pronóstico. En el caso concreto del fenotipo mixto, en la histología se diferenciaría de una inflamación intestinal por la infiltración de la lámina propia y/o muscular, además del tipo celular que infiltre, y en la inmunohistoquímica el índice Ki-67 elevado sugiere un proceso neoplásico en lugar de inflamatorio. La supervivencia en linfomas de grado leve a moderado tratados con protocolos monoagente fue claramente superior. No podemos comparar ambos protocolos cuando fueron aplicados a gatos con distintas afectaciones por la enfermedad. Cuando se evalúa respuesta al tratamiento y supervivencia, es evidente que en los tres casos donde no se consigue la RC, la supervivencia es claramente inferior, sin importar grado histológico ni tratamiento. En la bibliografía es además constante, como conclusión, que la respuesta al tratamiento inicial, la inducción de la remisión, es el factor pronóstico más importante^{2,12}.

Agradecimientos

A M. Martí por su apoyo y como "parte quirúrgica" de Tot Cat Clínica Felina.

A M. Vilafranca y J. Altimira del Laboratorio Histovet, Sant Quirze del Vallès, (Barcelona) por ser nuestros patólogos y por la cesión de imágenes.

A J. Sanchez y J. A. Navarro, del Departamento de Histología y Anatomía Patológica Animal (Microbiología e Inmunología), Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia, por el diagnóstico inmunohistoquímico y la cesión de imágenes.

Title

Feline alimentary lymphoma: immunophenotyping, chemotherapy and follow-up of 9 cats

Summary

This retrospective study describes the clinical details, pathology and immunophenotyping of alimentary lymphoma in 9 cats. Five of the cats were male and four female. Seven cats were Domestic Shorthair, two were Siamese. The median age was 11,4 years. The clinical signs were vomiting, diarrhoea and/or weight loss. Minimum database was obtained from all cats including complete blood count, biochemistry, serum protein electrophoresis, urinalysis, feline immunodeficiency virus (FIV) serology and feline leukaemia virus (FeLV) antigen test. All FIV and FeLV tests were negative. Abdominal ultrasonography and/or radiographs were examined. All cats' gastrointestinal tracts were sampled through a full-thickness biopsy after exploratory laparotomy and were examined by light microscopy. When histopathology-based diagnosis was elicited, a treatment plan was established. Lymphocytic lymphomas were treated with a single chemotherapeutic agent while lymphoblastic lymphomas were treated with a multi-agent protocol. In all cases several sections of the GI tract were submitted to immunohistochemical labelling for the T lymphocyte marker CD3 and the B lymphocyte marker CD79. Immunohistochemical diagnosis was known before treatment in only two cases. Most cases were III stage, low-medium grade and B phenotype. Survival times could be significant although the sample size is small, but low-grade lymphomas are by far best news for our feline patients.

Key words: alimentary lymphoma, cat, immunophenotyping, chemotherapy.

Bibliografía

- Patterson-Kane JC, Kugler BP, Francis K: The possible prognostic significance of immunophenotype in feline alimentary lymphoma: a pilot study. *J Comp Pathol.* 2004; 130(2-3):220-2.
- Moore AS, Ogilvie GK: Lymphoma. En: Moore AS (ed.): *Feline Oncology.* Trenton. Veterinary Learning systems, 2001; 191-219.
- Wang J, Kyaw-Tanner M, Lee C et al.: Characterization of lymphosarcomas in Australian cats using polymerase chain reaction and immunohistochemical examination. *Aust Vet J.* 2001; 79(1): 41-46.
- Valli VE, Jacobs RM, Norris A et al.: The histologic classification of 602 cases of feline lymphoproliferative disease using the National Cancer Institute working formulation. *J Vet Diagn Invest* 2000; 12:295-306.
- Day MJ, Henderson SM, Belshaw Z et al.: An immunohistochemical investigation of 18 cases of feline nasal lymphoma. *J Comp Path.* 2004; 130: 152-161.
- Peaston AE, Maddison JE: Efficacy of doxorubicin as an induction agent for cats with lymphosarcomas. *Aust Vet J,* 1999; 77(7):442-4.
- Kiselow MA, Rassnick KM, McDonough SP et al.: Outcome of cats with low-grade, lymphocytic lymphoma. *Proceedings of ESFM Feline Congress 2006;* 26.
- Fan TM, Kitchell BE, Dhaliwal RS et al.: Hematological toxicity and therapeutic efficacy of lomustine in 20 tumor-bearing cats: critical assessment of a practical dosing regimen. *J Am Anim Hosp Assoc* 2002; 38: 357-363.
- Gabor LJ, Canfield PJ, Malik R: Haematological and biochemical findings in cats in Australia with lymphosarcoma. *Aust Vet J* 2000; 78(7): 456-461.
- Diana A, Pietra M, Guglielmini C et al.: Ultrasonographic and pathologic features of intestinal smooth muscle hypertrophy in four cats. *Vet Radiol Ultrasound* 2003; 44(5): 566-569.
- Waly NE, Gruffydd-Jones TJ, Stokes CR et al.: Immunohistochemical diagnosis of alimentary lymphomas and severe intestinal inflammation in cats. *J Comp Pathol* 2005; 133: 253-260.
- Malik R, Gabor LJ, Foster SF et al.: Therapy for Australian cats with lymphosarcomas. *Aust Vet J* 2001; 79(12): 808-817.
- Matus RE: Chemotherapy of lymphoma and leukemia, in Kirk RW (ed.): *Current Veterinary Therapy X. Small Animal Practice.* Philadelphia, WB Saunders, 1989; 482-488.
- Evans SE, Bonczynski JJ, Broussard JD et al.: Comparison of endoscopic and full-thickness biopsy specimens for diagnosis of inflammatory bowel disease and alimentary tract lymphoma in cats. *J Am Vet Med Assoc.* 2006; 229(9):1447-50.