

## TRABAJO PRELIMINAR SOBRE DIFERENCIAS GEOGRÁFICAS EN EL INMUNOFENOTIPO DEL LINFOMA CANINO MULTICÉNTRICO

Rafael Molina Goicoechea<sup>1</sup>, Isabel Del Portillo Miguel<sup>1</sup>, Paz Vázquez Arguedas<sup>2</sup>, Antonia Hernández Madrid<sup>3</sup>, Pachi Clemente Vicario<sup>2</sup>, Juan Francisco Borrego Massá<sup>3†</sup>

1) Auna Especialidades Veterinarias 2) La Merced Oncología Veterinarias 3) Hospital Veterinario Vetsia

### OBJETIVOS DEL TRABAJO

Los linfomas multicéntricos (LM) caninos son un grupo de enfermedades con pronóstico variable y distinta respuesta al tratamiento. Factores como la raza influyen en la prevalencia de los distintos inmunofenotipos del linfoma, pero hay también una distribución geográfica distinta que hace que algunos inmunofenotipos sean más frecuentes en unas zonas que en otras<sup>1,2,3</sup>. La citometría de flujo (CF) permite no sólo conocer el inmunofenotipo de los linfomas, sino que se pueden reconocer los diferentes subtipos y analizar marcadores celulares importantes para el pronóstico<sup>4,5</sup>. Los objetivos de este trabajo son describir la presentación clínica de linfomas multicéntricos diagnosticados en tres centros de referencia mediante CF, evaluar la prevalencia de los subtipos asociados a distinto pronóstico, así como evaluar posibles diferencias geográficas en la distribución de cada tipo.

### MATERIAL Y MÉTODO

Se realizó una búsqueda retrospectiva en la base de datos de tres hospitales de referencia (Valencia, Alicante y Madrid) de los últimos dos años (2016 y 2017), de pacientes con linfoma multicéntrico, estadiados de forma completa y diagnosticados mediante CF de muestras obtenidas mediante punción de ganglios periféricos. Dichas muestras se obtuvieron de uno o más ganglios linfáticos, después de múltiples punciones, con o sin aspiración, usando una aguja fina (21-22 G). El panel de anticuerpos aplicados a las muestras de ganglio incluía anticuerpos para CD5, CD21, CD34, CD45, CD3, CD4, CD8, CD14, CD18, CD79a, ki67 y CHM II. El diagnóstico final estaba basado en el examen del aspirado del ganglio y resultados de CF. Todos los casos fueron interpretados por el mismo patólogo clínico. Además, se obtuvieron los datos de diferentes variables clínicas como raza, sexo, peso, historia, presentación clínica, citología ganglionar, hemograma y bioquímica, ecografía y radiografías. Las variables continuas se expresaron como medias, las variables categóricas como frecuencias y porcentajes. Para evaluar la diferencia de edad entre las distintas localizaciones geográficas, se utilizó ANOVA. A la hora de comparar las razas y proporción de linfoma en cada localización, se utilizó Chi cuadrado con tabla de contingencia 2x2. Para el análisis estadístico se utilizó el software comercial Graphpad Prism 7.0 (San Diego, Ca), considerando significativos aquellos hallazgos  $p < 0.05$ .

### RESULTADOS

Se identificaron 72 casos con LM, en los que el diagnóstico se obtuvo mediante CF. Tres casos fueron descartados, ya que el diagnóstico definitivo se realizó mediante PARR ("PCR Antigen Receptor Rearrangement") e Inmunohistoquímica debido a una muestra de CF no diagnóstica.

La raza mestiza fue la más frecuente con 13 casos (18.8%), siendo otras razas con al menos 3 casos: el Bulldog Francés, 10 casos (14.4%); Yorkshire Terrier 4 (5.7%); Labrador Retriever 4, (5.7%); Pastor Alemán 4 (5.7%); Cocker Spaniel 3 (4.3%); y Golden Retriever 3 (4.3%). No hubo diferencia significativa en la distribución de razas vistas en cada centro.

La edad media en el momento del diagnóstico fue de 8,5 años (3-13). Esta edad media según la localización

geográfica fue de 7,5 años en Alicante, 9,1 en Madrid y 8,6 en Valencia, siendo no significativa esta diferencia. La distribución por tipo de linfoma en los tres centros fue 51/69 (74%) linfomas de células B (BCL) (44 CMHCII+, 3 CMHC -, 4 CMHC N/A (No analizado), 11/69 (16%) linfomas de células T alto grado (TCL) (CD45+), 4/69 (6%) linfomas de células T indolentes (CD45-), 3/69 (4%) linfomas atípicos (2 negativos a todo y uno NoT/NoB). Por localización, Alicante: 9/17 (53%) BCL, 6/17 (35%) TCL alto grado, 2/17 (12%) atípicos. Madrid: 10/17 (58%) BCL, 4/17 (23%) TCL indolente, 2/17 (11%) TCL alto grado, 1/17 (6%) atípicos. Valencia: 32/35 (90%) BCL, 3/35 (9%) TCL alto grado. La distribución de tipos de linfoma (expresada en porcentaje) se examinó dos a dos, siendo los valores significativos: Alicante vs total ( $p < 0.0005$ ); Alicante vs Madrid ( $p = 0.0001$ ); Alicante vs Valencia ( $p = 0.0001$ ); Madrid vs total ( $p = 0.0042$ ); Madrid vs Valencia ( $p = 0.0001$ ); y Valencia vs total ( $p = 0.0033$ ).

## DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

De forma similar a lo ya descrito por otros autores<sup>5</sup>, los resultados de nuestro estudio confirman que la CF representa una prueba diagnóstica fiable en casos de pacientes con sospecha de LM, confirmándose el diagnóstico e inmunofenotipo, excepto en 3 casos.

Nuestros datos sugieren que, efectivamente, al igual que han demostrado otros autores<sup>1,2,3</sup>, puede haber diferencias geográficas en la presentación clínica de perros con linfoma, no llegando, sin embargo, a conocer las posibles causas de estas diferencias.

Las limitaciones de este estudio son inherentes a su naturaleza retrospectiva. No se analizaron algunas posibles fuentes de sesgos, incluida la ubicación y el tamaño del ganglio muestreado, la técnica utilizada para el muestreo (técnica de aspiración vs capilar), el uso de diferentes medios de transporte y la calidad de las muestras citológicas. Otra limitación es la falta de una prueba estandarizada para el diagnóstico definitivo, que nos impidió definir los resultados diagnósticos tanto de la citología como de la CF. Además, los datos recopilados solo fueron de tres centros de referencia en tres regiones diferentes de España con un número bajo de casos limitando el poder del estudio.

Como conclusión, teniendo en cuenta los datos proporcionados en este estudio, las diferencias geográficas en los subtipos de linfoma canino en España son probables sin haber determinado las posibles causas de estos hallazgos.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Pastor M, Chalvet-Monfray K, Marchal T, et al: Genetic and environmental risk indicators in canine Non-Hodgkin's lymphomas: breed associations and geographic distribution of 608 cases diagnosed throughout France over 1 year. *J Vet Intern Med* 2009; 23:301-310.
2. Ruple A, Avery AC, Morley PS: Differences in the geographic distribution of lymphoma subtypes in Golden retrievers in the USA. *Vet Comp Oncol* 2017;15(4):1590-1597.
3. Wilson-Robles H, Budke CM, Miller T, et al: Geographical differences in survival of dogs with non-Hodgkin lymphoma treated with a CHOP based chemotherapy protocol. *Vet Comp Oncol*. 2017;15(4):1564-1571.
4. Comazzi S, Gelain ME. Use of flow cytometric immunophenotyping to refine the cytological diagnosis of canine lymphoma. *Vet J*. 2011;188(2):149-55.
5. Comazzi S, Cozzi M, Bernardi S, et al.: Effects of pre-analytical variables on flow cytometric diagnosis of canine lymphoma: A retrospective study (2009–2015). *Vet J*. 2018; 232:65-69.