

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
ANTONIO NARRO  
UNIDAD LAGUNA  
División Regional de Ciencia Animal



Análisis Ultraestructural del Tumor Venéreo Transmisible  
Canino

Por

Dania Montserrat Pérez Soto

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL  
TÍTULO DE:

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Torreón, Coahuila, México

Febrero de 2008

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
ANTONIO NARRO  
UNIDAD LAGUNA  
División Regional de Ciencia Animal



Análisis Ultraestructural del Tumor Venéreo Transmisible  
Canino

Por

Dania Montserrat Pérez Soto

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL  
TÍTULO DE:

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Torreón, Coahuila, México

Febrero de 2008

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

TESIS

ANALISIS ULTRAESTRUCTURAL DEL TUMOR VENEREO  
TRANSMISIBLE CANINO

APROBADA POR EL COMITÉ PARTICULAR DE REVISIÓN

PRESIDENTE DEL JURADO

---

MC. ESEQUIEL CASTILLO ROMERO

COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA  
ANIMAL

---

MC. JOSE LUIS FRANCISCO SANDOVAL ELIAS

TORREÓN, COAHUILA

FEBRERO DE 2008

ANALISIS ULTRAESTRUCTURAL DEL TUMOR VENEREO  
TRANSMISIBLE CANINO

TESIS ELABORADA BAJO LA SUPERVISIÓN DEL COMITÉ  
PARTICULAR DE ASESORÍA Y APROBADA COMO REQUISITO  
PARCIAL PARA OBTENER EL TITULO DE:

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

PRESIDENTE:

---

MC. ESEQUIEL CASTILLO ROMERO

VOCAL:

---

MCV RAMÓN A. DELGADO GONZÁLEZ

VOCAL:

---

M.V.Z CARLOS RAÚL RASCÓN DÍAZ

VOCAL SUPLENTE:

---

MC JOSÉ LUIS F. SANDOVAL ELÍAS

TORREÓN, COAHUILA

FEBRERO DE 2008

## *Dedicatorias*

*Dios:* Por ser el principio y el final de mi camino, y permitirme permanecer en este espacio, rodeada de seres extraordinarios.

A mis padres: *Gerardo Pérez Sánchez* y *Martha Soto Aragón*, de quienes no solo he recibido mi vida y mi nombre, sino amor, cariño, y apoyo incondicional en todo momento, ellos forman parte de mis sueños más grandes y de mis logros.

A mis hermanos: *Gerardo Pérez Soto* y *Roberto Pérez Soto*, a estos dos personajes dedico mi infancia, mis alegrías, mis enojos, agradezco que durante todo este camino lleno de situaciones magníficas hayan permanecido a mi lado sin soltar nuestras manos aún en los momentos más difíciles.

A mis abuelos: *Ramiro Pérez Tinoco*, *Emilia Sánchez Huizar* y *Celia Aragón*, quienes han empapado mi vida de ternura, cariño, besos y miradas llenas amor que me impulsan a seguir adelante.

A mi mejor amigo y pareja: *José Manuel Lomas Meléndez*, a quién dedico mi esfuerzo, mi trabajo, mi fortaleza, mis desdichas. Principal colaborador en esta investigación, y quién a pesar de no aparecer en la portada en cada letra de la redacción plasma su experiencia y amor a esta carrera. No tengo palabras para hacerte saber que eres mi principal motivación, que te admiro por ser esa maravillosa persona que ha llenado mi vida de magia, que a pesar de nuestros enojos estaremos juntos y sin soltar nuestras manos hasta que el camino termine. Por fin este sueño culmina pero inician otros más, gracias por aguantar mis histerias y mis tristezas, mis desilusiones y mis alegrías, gracias por ser mi hombro para llorar y gracias por ser tus brazos los que están ahí para consolarme, te amo Suka!.

A mi hermana: *Karla Camarillo Gómez*, quien llegó a mi vida para convertirse desde el primer segundo en una integrante más de nuestra familia, gracias por quererme, gracias por tu confianza. Jamás olvidaré algo que escribiste para mi “Nunca dejes de hacer el último esfuerzo hasta no haber triunfado”.

## *Agradecimientos*

*Familia:* Personajes sacados de una serie irreal, que me rodean de amor y felicidad, y a quienes dedico todos mis sueños.

Asesores: *M.C. Esequiel Castillo Romero* a quien tuve la dicha de conocer, una persona que con su experiencia y paciencia me ha llenado de grandes aprendizajes. Gracias Doctor por formar parte de este sueño.

*M.C Ramón Alfredo Delgado González*, a quien agradezco la razón de que yo añore ser un mejor médico cada día, y quien todo este tiempo no notó que lo único que yo deseaba era ser como él, un ser lleno de cualidades, una persona con ángel que se gana a sus alumnos haciéndonos sentir que además de ser el Patólogo que nos enseña desde los principios básicos de nuestra carrera siempre será un maravilloso amigo. Gracias por ayudarme, por escucharme, por regañarme y por lograr que uno de los sueños que tanto he deseado al fin culmine.

Al *Laboratorio de Diagnóstico Veterinario* por las facilidades y atenciones otorgadas en este trabajo.

Al *Hospital Veterinario de Pequeñas Especies* con especial reconocimiento al *M.V.Z Carlos Raúl Rascón Díaz* por su apoyo incondicional y atenciones brindadas en este proyecto, y al *T.R José Medina* por el apoyo y motivación brindados para culminar esta tesis.

A la *Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (Departamento de Patología)* de la *Universidad Nacional Autónoma de México*, principalmente al *M.C. Carlos Cedillo Peláez* por el apoyo excepcional en este proyecto, por la paciencia que me tuvo durante un largo año, y gracias porque a pesar de la distancia mis dudas siempre fueron aclaradas. *M.C Carlos Esquivel Lacroix*, por ser una gran persona a la que admiro y por ayudarme a decidir sobre esta investigación.

A la *Clínica Veterinaria Campestre*, por ser el lugar donde he aprendido que ser Veterinario representa una labor única con innumerables satisfacciones, y donde día a día disfruto de mi más grande vocación.

*Alejandra Sánchez Maury* y *Marisol Hermosillo Luján*, por llenar mi vida de los momentos mas maravillosos que puedo recordar, por ser mis mejores amigas, mis confidentes, por ser con quienes he compartido las mas grandes locuras y porque sin ellas, sin su apoyo, sin su amor de hermanas todo sería aburrido y triste. Gracias...y saben que no fue necesario que nacieran de mi madre para poder llamarlas “Hermanas”, las amo.

*Margarita Orozco Escalera*, por todos los momentos que hemos compartido juntas a través de los años, gracias.

*Carlos Sandoval Aguirre*, a ti por siempre confiar y creer en mí, porque a pesar de que estés lejos seguimos siendo amigos incondicionales, gracias.

*Abraham Fuentes Parra*, mi compañero, confidente y cómplice de toda y cada una de las locuras desde que comenzó este sueño de ser Veterinarios. *Ma. Lourdes Balcazar* por estos 5 años y los que siguen de diversión y de locuras, gracias por pelear conmigo y hacerme reír. *Tanya Ma. Mora Salas* a ti gracias por ser siempre el alien del grupo por explicarme con paciencia todo lo que no entendía, y porque a pesar de no comprender lo que hacía siempre recibí tu apoyo, y comprensión. *Arturo Castrejón Barrios*, gracias por bromear, por hacerme reír, y por llenar mi vida de diversión estos 5 años. Momentos fantásticos junto a cuatro seres que nunca olvidaré... amigos y colegas.

*Luis Enrique Oviedo, Ivonne Oviedo, Mayela Oviedo Agüero, Humberto Soto, Rosario Gama*, gracias por ser el complemento en mi vida, por permanecer a pesar de los años, y por no olvidarme, gracias por su apoyo y confianza, los quiero mucho.

*Omar Trujillo Colector*, por confiar en mi, por quererme tal cuál soy, y porque a pesar de la distancia somos grandes amigos.

*Rocío Agüero Reyes*, por que a pesar de llevar poco tiempo de conocernos, te haz convertido en una parte fundamental en mi vida, eres una gran persona, gracias por escucharme, por verme llorar, por hacerme sonreír y sobre todo gracias por considerarme tu amiga, te quiero.

*Gerardo Gutiérrez Rocha, Jacobo Hermosilo, Jesús Seáñez, Carlos Rocha, Adolfo Martínez, Eduardo Román, Lucio Martínez*, gracias señores por quererme, cuidarme, ayudarme, sin ustedes todo seria aburrido y sin chiste, agradezco todos los momentos maravillosos y de incontables locuras que han compartido a mi lado y los que vienen, los quiero Mts y Tenoch.

Dania Montserrat Pérez Soto

# INDICE

<b>1. Resumen</b> .....	1
<b>2. Justificación</b> .....	2
<b>3. Objetivos</b> .....	3
3.1 Objetivos Generales.....	3
3.2 Objetivos Específicos.....	3
<b>4. Introducción</b> .....	4
<b>5. Antecedentes</b> .....	6
5.1 Etiología.....	7
5.1.1 Teoría de oncogénesis viral en el TVT.....	8
5.1.2 Inmunología.....	11
5.2 Transmisión y Patogenia.....	13
5.2.1 Morfología.....	15
5.3 Manifestaciones clínicas y lesiones.....	16
5.3.1 Lesiones macroscópicas.....	18
5.3.2 Lesiones microscópicas.....	19
5.4 Diagnóstico.....	19
5.4.1 Diagnóstico diferencial.....	21
5.5 Tratamiento.....	21
5.5.1 Alternativa terapéutica.....	25
<b>6. Material y Métodos</b> .....	26
6.1 Marco de referencia.....	26
6.2 Fase de campo.....	26
6.3 Fase de laboratorio.....	27
6.3.1 Consideraciones generales.....	27
6.3.2 Selección de material de estudio.....	28
6.3.3 Descripción del proceso de las muestras.....	30
6.4 Antecedentes de MET.....	31
6.4.1 Características del microscopio electrónico.....	31
<b>7. Resultados</b> .....	35
7.1 Análisis de resultados.....	43
<b>8. Discusión</b> .....	44
<b>9. Conclusión</b> .....	45
<b>10.Revisión de literatura</b> .....	46



## I RESUMEN

El Tumor Venéreo Transmisible (TVT) o también llamado tumor de Sticker es una neoplasia que se localiza en los genitales tanto de hembras como de machos caninos, es también conocido como sarcoma infeccioso, linfosarcoma venéreo, granuloma venéreo, condiloma canino, tumor transmisible de células reticulares entre otros. Este es un tumor que tiene un comportamiento epizootico muy peculiar, pues suele presentar oscilaciones en su frecuencia en la población canina a lo largo de los años.

El TVT canino por lo general es una neoplasia con características histológicas benignas y en animales sanos puede involucionar de manera espontánea. Se propaga a través del coito, lameduras o mordeduras, y son los perros callejeros los que actúan como reservorios de esta enfermedad.

Su morfológica macroscópica es, aspecto de coliflor, pedunculado, nodular, papilar, o multilobulado, y va desde un nódulo pequeño (5 mm) a una masa grande (10 cm) y al tacto es firme aunque friable, la parte superior comúnmente se encuentra ulcerada e inflamada, se localiza en la mucosa del tracto reproductivo de la hembra (generalmente vulva y vestíbulo vaginal) y en el pene en el caso de los machos.

La clasificación, el diagnóstico y el pronóstico de los tumores de células redondas se basan en gran parte en su citología, histoquímica y características histopatológicas, aunque algunas veces se llevan a cabo pruebas citogenéticas y análisis microscópicos de electrones, aunque su empleo es limitado debido a la complejidad de las técnicas y sobretodo a la necesidad de técnicos expertos.

## II JUSTIFICACIÓN

La investigación esta basada en el hecho de abordar el estudio de un tema de interés sustantivo tanto para la medicina veterinaria de las pequeñas especies, como para la salud pública, como lo es la transmisión de diversas neoplasias haciendo principal énfasis en el TVT.

Es de particular importancia el conocimiento de los procesos de transmisión así como las alternativas de tratamiento de algunas neoplasias autolimitantes de posible origen viral, así como su repercusión en los aspectos médicos y económicos que representan tanto para médicos, criadores y propietarios de mascotas.

El conocimiento de la incidencia, predisposición, así como sus índices de transmisión y probables etiologías, contribuirán a entender con mas claridad esta problemática en los caninos y posteriormente a proponer y establecer medidas preventivas y correctivas contra el TVT.

Considerando estos antecedentes y la alta prevalencia del TVT en la población canina, se pretende en el siguiente estudio identificar las alteraciones ultraestructurales de las células neoplásicas con la finalidad de identificar algún factor etiológico que participe en la patogenia de la enfermedad.

### **III OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo general**

- ✓ Identificar las estructuras celulares del Tumor Venéreo Transmisible canino por medio de microscopía electrónica de transmisión.

#### **3.2 Objetivos específicos**

- ✓ Identificar el Tumor Venéreo Transmisible de nódulos genitales, cutáneos y de mucosas de muestras clínicas en caninos, por medio de citología exfoliativa.
- ✓ Practicar la resección quirúrgica de los tumores e inmediatamente fijarlos en solución fijadora.
- ✓ Realizar el estudio ultraestructural de los tumores utilizando el microscopio electrónico de transmisión.

## IV INTRODUCCIÓN

El Tumor Venéreo Transmisible (TVT) se describe en animales domésticos y se conoce desde principios del siglo XX, pero el panorama se encuentra en constante evolución con la presencia y mayor incidencia en caninos no supervisados o vagabundos. Está distribuido a nivel mundial y fue descrito por primera vez en 1820 por Hujard en Europa y su nombre se asocia con Sticker que sistemáticamente lo estudió específicamente en 1905. Más tarde, fue probado que los caninos son los únicos afectados por TVT descrito por Flor en 1954. Fue entonces cuando se confirmó que las células neoplásicas eran el agente causal y que esto inducía una respuesta inmune en el hospedador, lo cuál fue probado por Cohen en 1972 (Boscos, 2004).

El TVT o también llamado tumor de Sticker es una neoplasia que se localiza en los genitales tanto de hembras como de machos caninos, es también conocido como sarcoma infeccioso, linfosarcoma venéreo, granuloma venéreo, condiloma canino, tumor transmisible de células reticulares entre otros. Este es un tumor que tiene un comportamiento epizoótico muy peculiar, pues suele presentar oscilaciones en su frecuencia en la población canina a lo largo de los años (Ortega y col., 2003).

El TVT canino por lo general es una neoplasia con características histológicas benignas y en animales sanos puede involucionar de manera espontánea. En perros inmunodeprimidos, el TVT suele producir metástasis y causar la muerte del animal. La enfermedad clínica se limita usualmente a perros de edad reproductiva entre 2 y 6 años de edad, con mayor afinidad en hembras (Trigo, 1998). Se propaga a través del coito, lameduras o mordeduras, y son los perros callejeros los que actúan como reservorios de esta enfermedad (Park y col., 2006).

Su morfológica macroscópica tiene, aspecto de coliflor, pedunculado, nodular, papilar, o multilobulado, y va desde un nódulo pequeño (5 mm) a una masa grande (10 cm) y al tacto es firme aunque friable, la parte superior

comúnmente se encuentra ulcerada e inflamada, se localiza en la mucosa del tracto reproductivo de la hembra (generalmente vulva y vestíbulo vaginal) y en el pene en el caso de los machos. Se ha diagnosticado también en zonas extragenitales como piel, vías nasales, cavidad oral e interior del contorno de los ojos (Martínez y col., 2006), así como en bazo, cerebro, hígado y pulmones lo que indica su capacidad de metástasis (Ortega y col., 2003).

La transmisión ocurre por pasaje de las células exfoliadas intactas a través de la cópula, para lo cual la mucosa receptora debe estar lesionada antes o durante el coito. Estas células se implantan sobre las membranas de la mucosa genital, nasal u orofaríngea y la piel. En ocasiones las células tumorales pueden transportarse a diferentes zonas cutáneas a través del laminado de los órganos genitales afectados y la piel circundante (Martínez y col., 2006).

“ El TVT ha atraído la atención de diversos autores, debido a su alta frecuencia y la necesidad de encontrar tratamientos eficaces, a los rasgos peculiares de la enfermedad, el interés continuo y creciente tanto de la medicina humana como de la medicina veterinaria en oncología (Boscos, 2004)”.

## V ANTECEDENTES

El primer antecedente histórico documentado del Tumor Venéreo Transmisible, se describe por primera vez en 1820 por Hujard en Europa, eventualmente específicamente en 1828, Delabere-Blaine lo menciona en algunas investigaciones (Sousa y col., 2000) y su nombre ha sido asociado con Sticker que sistemáticamente lo estudió a principios del siglo XX (Boscos, 2004).

Mientras tanto Novinsky en 1876, demuestra que el tumor puede ser transplantado desde un hospedador susceptible a otro hospedador a través de la inoculación con células tumorales. Las inclusiones citoplasmáticas encontradas en las células tumorales causaron el que esta neoplasia se atribuyera a agentes de tipo viral por algunos autores, a pesar de que el tumor no pudo ser consistentemente transmitido a través de extractos libres de células (Mello Martins y col., 2005).

Se ha registrado en todos los continentes; en Asia fue identificado por Wong y K'Ang en 1932, en América por Flor en 1951, en África por Bwangamoi en 1967 y en Australia por Locke en 1975 (Boscos,2004).

Esta neoplasia es poco común en el Norte y Centro de Europa y en Norteamérica, debido al control demográfico de animales vagabundos, el examen de selección preventivo y el tratamiento eficaz de casos clínicos; con algunas excepciones, puede permanecer endémico en el resto del mundo, esto debido a la falta de control canino y a la ineficiencia en la labor de tratamientos eficaces (Boscos,2004), y suele presentarse con mayor frecuencia en áreas tropicales o subtropicales (Calero y col., 2006).

En México, se considera endémico pero con una baja prevalencia, suele ser común sobre todo en áreas donde existen ineficiencias en cuanto al control de la población canina (Ramírez y col., 2007).

## 5.1 Etiología

El Tumor venéreo transmisible (TVT), también conocido como sarcoma infeccioso, granuloma venéreo, linfosarcoma transmisible o tumor de Sticker, es un tumor retículo-endotelial benigno del canino que afecta sobre todo a los órganos genitales externos y ocasionalmente a los genitales internos (Mello Martins y col., 2005).

Sticker estableció en 1905 que la transmisión se realiza mediante células de neoplasma intactas, más tarde Flor en 1954 demuestra que los caninos son los únicos afectados por TVT, y posteriormente Cohen en 1972 confirma que la célula del neoplasma es el agente causal y que eso induce una respuesta inmune en el huésped. Estas diferencias morfológicas significativas eran demostradas para distinguir entre células de perro normales y células del tumor. Estos incluyen constantemente algunas aberraciones de cromosoma sumamente específicas, que, asociadas con otros factores, conducen a la conclusión que TVT proviene de las células que han sufrido una mutación causada por un factor todavía desconocido (Boscos, 2004).

Generalmente se transmite durante el coito, principalmente en animales jóvenes sexualmente maduros. Las células del TVT contienen un número anormal de cromosomas, que oscila entre 57 y 64 con un promedio de 59, en contraste con el número normal de cromosomas de la especie que es de 78. Las características antigénicas de la superficie de sus células sugieren que todos los TVT se originan a partir de un tumor canino único original (Mello Martins y col., 2005).

Es importante recalcar que esta neoplasia con propiedades y desarrollo poco convencional clínico, naturalmente ocurre exclusivamente en perros contaminados principalmente por el contacto sexual y posiblemente por el contacto directo relacionado con el comportamiento social entre ellos (Boscos, 2004).

“La clasificación, el diagnóstico y el pronóstico de los tumores de células redondas se basan en gran parte en su citología, histoquímica y características histopatológicas, aunque algunas veces se llevan a cabo pruebas citogenéticas y análisis microscópicos de electrones, aunque su empleo es limitado debido a la complejidad de las técnicas y sobretodo a la necesidad de técnicos expertos (Taci Cangul, 2001)”.

“A pesar de la gama de técnicas diagnósticas ya mencionadas, la clasificación exacta y el diagnóstico de los tumores pueden ser complicados. Las células que componen los tumores tienen una semejanza morfológica y el problema es aún mayor cuando los tumores presentan las etapas de diferenciación así como formas de célula inesperadas (Taci Cangul, 2001)”.

### **5.1.1 Teoría de oncogénesis viral en el TVT**

“En los últimos 20 años hemos sido testigos del papel tan importante que juegan los virus en el desarrollo de la oncología en los humanos y se han catalogado solo algunos tipos de cáncer con etiología viral (Butel, 2000)”.

De manera general los mecanismos de oncogénesis viral se pueden resumir de la siguiente manera:

1. Estimulación de proliferación celular por genes virales transformantes denominados oncogenes (Peters, 1990)
2. Activación de genes celulares por promotores virales insertados en sus proximidades (Peters, 1990)
3. Generación de mutaciones por inserción del DNA viral en cromosomas celulares
4. Inmunosupresión
5. Inducción no específica de la proliferación celular secundaria a ciclos de reacción inflamatoria y regeneración (Delgado, y col., 2004).

Los virus tumorigénicos alteran la maquinaria de la célula infectada para promover su propia supervivencia y crecimiento. En este proceso, los virus interfieren con los mecanismos de control celular normal, originando un crecimiento anormal, alteraciones genéticas y finalmente un procesos de malignidad (Delgado y col., 2004).

“El RNA y DNA de tumores de origen viral hacen contribuciones fundamentales en dos de las mayores áreas de investigación oncológica, los virus fueron los primeros en ser descubiertos y analizados según su patrón y desarrollo y síntesis celular, por lo que son los oncogenes los que originan las partes esenciales para su replicación y transformación celular, y son las oncoproteínas las que se complementan con proteínas para llevar a cabo el estímulo del ciclo celular y de progresión para desencadenar la formación de la neoplasia (Butel, 2000)”.

En cuanto a la replicación viral dentro de las células, causan cambios degenerativos o de muerte celular, lo cual se manifiesta con diferentes lesiones o enfermedades en animales domésticos o silvestres. Los viriones, que son partículas infectantes, carecen de ribosomas para llevar a cabo síntesis proteica y generar diferentes componentes de su envoltura, por lo cual emplean los organelos de la célula huésped para poder replicarse. Esta replicación, genera alteraciones en los organelos involucrados, siendo reemplazados gradualmente por el acumulo de proteínas virales y otras estructuras, las cuales son utilizadas para la formación de nuevos virus.

El proceso de replicación viral, produce varios tipos de proteínas empleadas para el ensamblaje de nuevos viriones. La producción abundante de proteínas virales y otros componentes, se puede acumular excesivamente y generar inclusiones (cuerpos de inclusión) que distorsionaran la morfología celular, declinando la formación de energía, las bombas electrolíticas en la superficie celular y desequilibrando el pH interno. El resultado final de este proceso conlleva a la lisis celular con liberación de detritus celulares y nuevos virus (en algunas familias virales) a los espacios tisulares, dándose manifestación clínica de enfermedad. El efecto de la lisis celular por los virus, se retroalimenta con la

respuesta celular inflamatoria, tanto para la presencia de los virus como retroalimentada por los detritus celulares (Cedillo y col., 2005).

Algunos autores describen al TVT como un tumor de células redondas, mientras que otros hacen referencia de él como un tumor de linfocitos, histiocitos incluso de células necrodermales y epiteliales, es decir, un granuloma infeccioso (Cockrill y col.,1975).

En un estudio ultraestructural del tumor de Sticker, se menciona que las alteraciones de las células tumorales en degeneración consisten en cambios citoplasmáticos durante sus múltiples estadios tumorales, y los cambios en ambos núcleos citoplasmáticos avanzan según dicha degeneración y conforme aumenta esta destrucción el retículo endoplásmico y los ribosomas sufren las mismas consecuencias (Cockrill y col.,1975).

Eventualmente, se llevó a cabo un estudio preliminar del tumor de Sticker en el año de 1985, y se menciona que las células degeneradas y necróticas son caracterizadas principalmente por una aparente vacuolización del citoplasma y la pérdida de los organelos normales existentes, cabe mencionar que esta investigación fue hecha únicamente en dos pacientes caninos (Amber y col.,1985), esto mismo se reporta en investigaciones anteriores por Adams y col., que menciona la presencia de partículas virales tipo "C" en tejido de desarrollo y crecimiento en las células del tumor venéreo transmisible, al igual que González-Angulo y Hernández Jáuregui que reportaron un hallazgo similar de partículas virales intracitoplasmáticas en estas mismas células (Amber y col., 1985) también se describe que aunque las inclusiones citoplasmáticas anularon laminillas y densidad cristalina, se logró observar en algunos de los estadios alguna inclusión que pudiese relacionarse a alguna infección viral, este trabajo describe infiltraciones leucocitarias en las células tumorales de TVT, sin embargo, esta en constante desarrollo ya que ultraestructuralmente existe una relación entre la infiltración leucocitaria y las células tumorales con un desarrollo progresivo y estadios de regresión tumoral, esto se debe mas que nada a que la neoplasia muestra numerosas infiltraciones leucocitarias y de colágeno, las cuáles se relacionan primordialmente con el estadio de

desarrollo y volumen tumoral, por lo tanto conforme estas estructuras disminuyen el tumor refleja una regresión (Hill y col.,1984).

Existen dos probables explicaciones para estos procesos:

- 1.- La síntesis del colágeno ocurre extracelularmente
- 2.- El colágeno sintetizado intracelularmente es tomado de la degradación celular (Hill, et., al 1984)

Algunos investigadores suponen que la relación existente entre las células linfocíticas proveen cierta toxicidad linfocítica la cuál tiene como efecto retardar el desarrollo tumoral (Hilly col.,1984), por medio de la técnica de microscopía electrónica las neoplasias observadas se componen principalmente de: macrófagos, linfocitos, células plasmáticas, estromas reticulares y vasos sanguíneos (Cockrill y col.,1975), también se han observado infiltraciones linfocitarias en los diferentes estadios del desarrollo tumoral, así como eosinófilos y son asociados con linfocitos y células tumorales, estos mecanismos son sumamente responsables de la eosinofilia en todo el TVT y desafortunadamente es un mecanismo totalmente desconocido (Hill y col.,1984).

Solo existe una teoría para este mecanismo, y es la fragmentación de la membrana plasmática, tomando en cuenta la gran cantidad de procesos citoplasmáticos en el desarrollo de esta neoplasia (Hill, et., al 1984), sin embargo, existen cambios ultraestructurales en los estadios de progresión o regresión tumoral y es posible que se presente una posible partícula viral en las células recolectadas, estas observaciones han sido descritas en diferentes estudios de investigación pero ningún hallazgo ha sido totalmente concretado (Cockrill y col., 1975).

### **5.1.2 Inmunología**

El tumor venéreo transmisible es la única neoplasia en la cuál las células cancerígenas pueden ser trasplantadas de un hospedador a otro en un medio natural (Kamran y col.,2002), únicamente es necesario que el receptor se

encuentre inmunodeprimido, y así se provee un medio idóneo para el contagio (Yang, 1998).

Sticker es un tumor inmunogénico, y se demostró que el sistema inmunológico del hospedador juega un papel decisivo en inhibir el crecimiento tumoral y en la producción de metástasis (Mello Martins y col., 2005), así que, todo patrón depende de la inmunidad del huésped, a nivel experimental se observa que en perros adultos inmunocompetentes esta neoplasia tiende a regresar de manera espontánea en pocos meses, mientras que en caninos inmunodeprimidos tiende a crecer y a metastatizar (Martínez y col., 2002).

En investigaciones recientes donde se emplearon varios marcadores genéticos se concluyó que el agente infeccioso del TVT canino es la misma célula cancerosa y que el tumor es clonal en su origen. De hecho, se considera que una célula somática se desarrolló como un parásito transmisible. Las células de TVT comparten un inmunofenotipo con los histiocitos, lo cual fue interpretado originalmente como un rastro de su probable origen celular, sin embargo, recientemente existe evidencia que indica que las células de TVT son leucocitos no maduros con linaje mieloide (Ramírez y col., 2007).

Aunque el origen de esta neoplasia no ha sido totalmente definido, algunos estudios abordados por medio de inmunohistoquímica indican que tiene un origen histiocítico (Kuang-Wen Liao y col., 2003) considerándose inusual en varios aspectos: en primer lugar las células neoplásicas son genéticamente distintas a las del huésped, ya que contienen 59 cromosomas en lugar de los 78 naturalmente presentes en las células somáticas del perro y en segundo lugar, la transmisión se lleva a cabo por la implantación de las células neoplásicas de una manera inmediata (Ramírez y col., 2007).

Por otro lado, se ha demostrado en algunas investigaciones que el TVT tiene un origen clonal de células cancerosas que presentan un inserto LINE en el proto-oncogen c-myc que induce la sobre expresión de este gen. La infección se efectúa por trasplante de células tumorales sobre mucosa genital normal (Medrano, 2007).

La regresión de esta neoplasia se atribuye principalmente a una serie de investigaciones que se han llevado a cabo *in Vitro*, describen que TVT es sumamente antigénico ya que estimula su producción mientras va inhibiendo los factores de bloqueo del huésped, por lo que por medio del suero se ha medido su actividad en el curso de la enfermedad, así como su proceso de bloqueo e inhibición de factores, en lo cuál influye en gran parte la inmunidad humoral del huésped, ya que los anticuerpos pueden ser inactivados por la introducción de nuevos agentes, o pueden mantener un complejo antígeno-anticuerpo en donde se bloquea IgG (Beschoner y col., 1979) aproximadamente 40 días después del contagio, lo cuál se observa por medio de inmunofluorescencia, posteriormente se remueve el tumor, se inhiben y bloquean las funciones y se detiene el curso clínico de la neoplasia, por lo que suponen existe una manera de regresión tumoral o bien hay progresión y una posible metástasis tomando en cuenta el estado de inmunocompetividad del huésped (Epstein y Bennett, 1974).

Al llevarse a cabo la transmisión, el tumor de Sticker puede permanecer durante 4 a 6 meses o más, incluso puede tener una regresión espontánea (Yang, 1987) que puede ser causada por la inmunidad humoral del hospedador y respuestas celulares en contra de la neoplasia y sobreexpresión de las moléculas de MHC (Kuang-Wen Liao y col., 2003) además las células neoplásicas de TVT disminuyen la expresión de las moléculas MHC I y II durante la fase de la progresión del tumor. Esta alteración inmune puede ser relacionada con una interacción anormal de componentes inmunes (Ramírez y col., 2007).

## **5.2 Transmisión y Patogenia**

Las neoplasias de vagina y vestíbulo representan el 2.5 al 3% de los tumores en caninos adultos. El leiomioma y el TVT son las neoplasias vaginales más comunes, y suelen encontrarse en caninos sexualmente activos afectando principalmente a los órganos genitales externos del macho, en

cuanto a la hembra suelen localizarse en vagina y alguna de las veces en útero (Martínez y col.,2002).

El TVT es notable, ya que es el único tumor que puede ser transplantado dentro de individuos de la misma especie e incluso a miembros de la familia canina, tales como zorros, de coyotes y de lobos (Ramírez y col., 2007).

Se ha establecido en diversas investigaciones que esta neoplasia posee una línea de células sumamente estables y que pueden permanecer en el huésped incluso hasta por mas de dieciocho meses (Adams y col., 1968).

La transmisión se origina por pasaje de células exfoliadas intactas a través de la cópula, para lo cual la mucosa receptora debe estar lesionada antes o durante el coito, estas células se implantan sobre las membranas mucosas genital, orofaringe o la piel. A veces las células tumorales pueden vehicularizarse a diferentes zonas cutáneas a través del lamido de los órganos genitales afectados y la piel circundante. Los lugares extragenitales más comunes para hallar células transplantadas son cavidad nasal, bucal, piel y órbita (Martínez y col., 2002).

“Se menciona que existen cuatro formas de transmisión: directa, auto transplante, vectores y quirúrgica y el período de incubación fluctúa de 2 a 6 meses (Medrano, 2007)”.

La implantación del tumor se facilita por la presencia de cualquier lesión en la mucosa o por la pérdida de integridad de la misma, y el crecimiento de la neoplasia comienza entre 15 y 60 días después de la implantación, evolucionando en forma lenta e impredecible durante años o ser invasivos y eventualmente transformarse en malignos y formar metástasis (Mello Martins y col., 2005).

El tumor venéreo ha sido considerado algunas veces como un tumor benigno, como un tumor potencialmente maligno o como un tumor maligno con baja capacidad para provocar metástasis. El progreso del tumor es

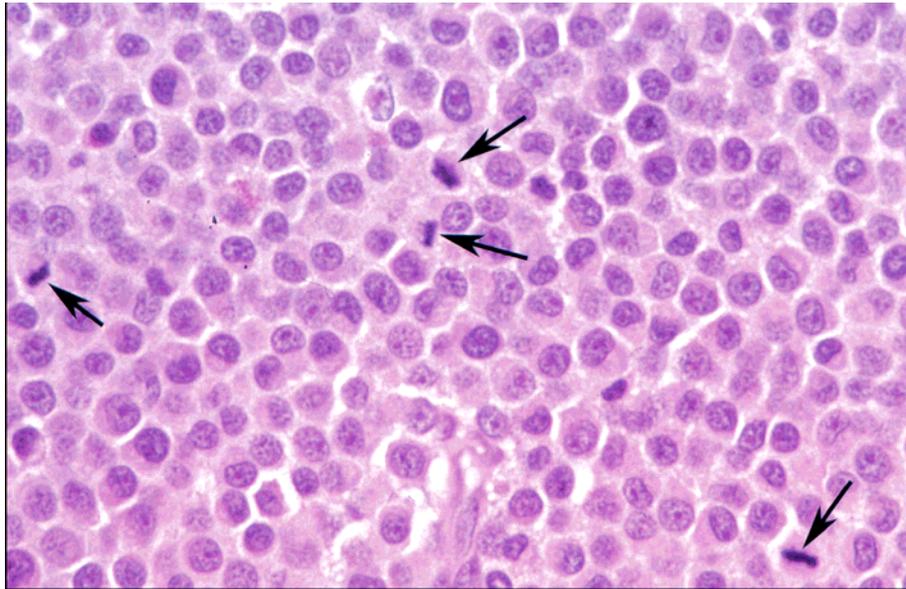
comúnmente predecible. En casos naturales y experimentales el patrón inicial corresponde con un crecimiento progresivo el cual es seguido por una fase estática, la cual termina con una fase de regresión correspondiente con el establecimiento de inmunidad en animales adultos (Ramírez y col., 2007).

### **5.2.1 Morfología**

Llamamos neoplasma a un crecimiento de células nuevas que proliferan sin control, sin ejercer alguna función útil y por lo general carecen de una disposición ordenada. En el caso de las neoplasias benignas la morfología es aproximadamente normal en relación con los tejidos adyacentes aunque algo distorsionada por el aumento en el número de células, suele no extenderse mas allá de la membrana básica o de la capa basal de células y cuando el tumor se involucra con una membrana mucosa, todo su crecimiento es hacia el exterior del cuerpo sin infiltrarse en los tejidos debajo de la cubierta epitelial (Runnells y col., 1982).

La morfología del tumor venéreo *in Vitro* es sumamente interesante, según algunas investigaciones (Adams y col., 1968) después de cultivar las células por un periodo de 24 horas, la mayoría presentaba histológicamente una forma redonda u ovoide estas células poseen núcleos grandes, redondos, hipercromáticos y con un nucleolo situado en el centro, además poseen un citoplasma, abundantes eosinófilos y números notables de figuras mitóticas. El tumor es extremadamente rico en células, y el estroma que contiene abundantes vasos sanguíneos se observa como una línea delgada dentro de los racimos celulares del tumor (Gurel y col., 2002). Sólo algunas presentaron características de células ligeramente alargadas y delgadas. A 48 horas se presentaron 2 tipos de morfología celular: algunas células alargadas y sumamente delgadas, a diferencia de las células redondas con un núcleo prominente y citoplasma abundante. Después de 3 días de incubación, se observaron grupos de células adjuntas, es decir, unidas en varios grupos, y algunas de ellas se encontraban dispersas en el medio, con formas redondas, alargadas y delgadas (Adams y col., 1968).

TVT tiene un aspecto morfológico microscópico similar a otras neoplasias de células redondas, sin embargo, tiene variedades como macrófagos y células de 15-30 mm de diámetro (Sousa y col., 2000). Estas células son pequeñas y redondas además son acompañadas de un núcleo grande y un citoplasma prominente en el cuál la vacuolización es muy común (Kuang-Wen Liao y col., 2003).



**Figura 1.** Histopatología, utilizando la tinción hematoxilina y eosina en la cuál se aprecian células neoplásicas pleomórficas, con un núcleo grande e hiper cromático, contiene gran cantidad de cromatina, un nucleolo prominente y abundantes figuras mitóticas (Kamran y col., 2002).

### 5.3 Manifestaciones clínicas y lesiones

TVT comprende signología que se diferencia en cuanto a hembras y machos afectados (Birchard y Sherding, 1996).

En algunas ocasiones el propietario acude a la clínica debido al lamido excesivo de genitales en ambos sexos (Birchard y Sherding, 1996) presencia de secreción sanguinolenta constante vaginal o perianal en su mascota,

además de hematuria, mucosas ulceradas y en el tejido nodular hemorragias localizadas con algunas decoloraciones (Sousay col., 2000).

#### Genital

Machos: En el fórnix y prepucio peneano.

En el pene se localiza en el glande o caudal al mismo (figura 2), y en el prepucio desde el fórnix al orificio prepucial lo recomendable es exteriorizar el pene para poder visualizarlo (Barceló de la Isla., 2007).



**Figura 2.** Sarcoma de Sticker localizado en la base y glande del pene (De la Cruz y col., 2004).

Hembras:

En el vestíbulo vaginal (figura 3), para poder visualizarlo se requiere distender los labios vulvares (Barceló de la Isla., 2007).



**Figura 3.** Neoformación de unos 3.5 cm de diámetro y de 1.0 cm por encima del nivel de la piel (Martínez y col., 2002).

Extragenital:

Las formas de presentación incluyen:

- Intranasal
- Cavidad oral: labios y lengua
- Ojo: esclerótica y cámara anterior del ojo
- Piel (Barceló de la Isla., 2007).

En general, se encuentran placas blanquecinas con pequeños fragmentos de tumor, y como referencia puede desprenderse fácilmente el tejido primario durante la manipulación clínica (Sousa y col., 2000).

### **5.3.1 Lesiones macroscópicas**

Se observan masas multinodulares con aspecto de coliflor situadas en la vulva (figura 3) y extendiéndose hasta vestíbulo y vagina, la cuales tienen un aspecto de deformación anatómica. Las masas son coalescentes y con dimensiones variables; algunos de ellos suelen ser pequeños nódulos con un

diámetro de 2 a 4 cm aproximadamente, por otro lado pueden llegar a alcanzar un tamaño de 12 cm de largo por 6 cm de ancho. La mayoría de los tumores se encuentran ulcerados e infectados, con zonas necrosadas y hemorrágicas (Ramírez y col., 2007).

En cuanto a la vulva aparecen varias secciones de un tumor sólido bien circunscrito pero no encapsulado localizado en dermis e hipodermis profunda (Ramírez y col., 2007).

### **5.3.2 Lesiones microscópicas**

Algunas áreas suelen estar ulceradas y están acompañadas de tejido de granulación. Las células tumorales se distribuyen a manera de racimos o cordones apretados compuestos de grandes células homogéneas, redondas y entremezcladas por un delicado estroma. El citoplasma es eosinófilo, denso, algunas veces vacuolado y no siempre es perceptible. El núcleo puede presentar diferentes tamaños, lo acompaña un poco de cromatina granular o condensada y un nucleolo prominente (Ramírez y col., 2007). Las figuras mitóticas son abundantes alcanzando 6-8 en algunas áreas. Se incluyen también discretos grupos de linfocitos que infiltran el tumor adyacente a zonas necrosadas y hemorrágicas (Ramírez y col., 2007).

### **5.4 Diagnóstico**

En términos generales, en el caso de las neoplasias se recomienda llevar a cabo una anamnesis que puede esclarecer sobre la etiología del tumor, aún así es sumamente importante la capacidad y el conocimiento del médico veterinario (De nardo y col., 2002).

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

sobrevida. Por lo que las muestras necesarias para este fin deben llegar a laboratorio en óptimas condiciones (Rangel,2002).

TVT puede ser diagnosticado y comprobado por medio de pruebas de laboratorio, tales como citología vaginal, la cual es sumamente esencial para el diagnóstico primario (Duncan y Prasse, 1979), posteriormente deben tenerse a disposición la histopatología, biopsia incisional y/o vaginoscopia (Sousa y col., 2000).

Por otro lado, un examen complementario siempre es conveniente ya que nos permite profundizar en la historia del paciente oncológico, aliado a radiografía, ultrasonografía, hemograma, pruebas bioquímicas y se recomienda como complemento de historia clínica un uroanálisis, (De nardo y col., 2002).

Recientemente, la biología molecular ha demostrado su eficacia en el diagnóstico de TVT (Ramírez, et., al 2007), sin embargo, no existen anticuerpos específicos para el diagnóstico de TVT por inmunohistoquímica y, por lo tanto, se requiere de un panel de anticuerpos para su identificación (Goldschmidt y Hendrick, 2002).

Es relevante recalcar que en hembras esta neoplasia se localiza frecuentemente en vagina con un 53% de los casos totales, en la vulva 33%, y en regiones extragenitales 14%. Por otro lado, en los machos la totalidad de los casos se encuentran principalmente en prepucio o pene 56% y en zonas extragenitales 14% (Sousa y col., 2000).

Los diferentes tipos de neoplasias pueden ser identificadas y clasificadas en diferentes grupos anatomopatológicos, por medio de la microscopía óptica y/o la inmunohistoquímica (Khosravi y col., 2004).

#### **5.4.1 Diagnóstico diferencial**

El TVT se incluye dentro del grupo de tumores de células redondas de piel en caninos, además de el linfoma, el melanoma, el plasmacitoma, el histiocitoma, mastocitoma, linfosarcoma y el tumor de células cebadas (Medrano, 2007). El linfoma, histiocitoma y el tumor de células cebadas son considerados como los diferenciales primarios; sin embargo, el tumor de Sticker canino es del primero que se sospecha cuando los órganos genitales están afectados (Ramírez y col., 2007).

Dentro de las neoplasias que afectan vulva y vagina como tal, se han descrito tanto en hembras caninas, felinas, porcinas e incluso yeguas. Dentro de la gran gama de tumores se incluye el adenocarcinoma, histiocitoma fibroso, lipoma, mixoma y mixofibroma, melanoma, osteosarcoma, papiloma y el leiomioma y leiomiosarcoma, todos ellos se diagnostican por medio de pruebas de laboratorio tales como histopatología e inmunohistoquímica (Radi, 2005).

Por lo tanto, el diagnóstico diferencial de las otras neoplasias y el TVT canino debe basarse principalmente en criterios clínicos, y de laboratorio tales como exámenes citológicos e histopatológicos (Ramírez, et., al 2007), sobretodo antes de iniciar una opción terapéutica con el paciente (Beletti y col., 2004).

#### **5.5 Tratamiento**

Las neoplasias son principalmente enfermedades que se caracterizan por ser altamente diseminadas, que se ponen de manifiesto por el estudio anátomo-patológico de una de sus metástasis. El tratamiento no está totalmente establecido, salvo en unas pocas situaciones con implicaciones terapéuticas específicas, y que proponen a cierto tiempo un buen pronóstico. El tratamiento más habitual es la quimioterapia empírica con regímenes basados en los taxanos (paclitaxel o docetaxel) y platinos (cisplatino o carboplatino), con unos resultados dispares en los diferentes estudios (Khosravi y col., 2004).

Los antineoplásicos actúan de manera que interfieren en el proceso de síntesis de DNA, RNA y proteínas, provocando así muerte celular inmediata, a una primera tentativa división celular (Sousa y col., 2000), la terapia constituye un método mayormente mas eficiente, disminuyendo el factor de riesgo sobre todo en animales en un período senil, y con menos probabilidades de regresión tumoral (Sousa y col., 2000).

Desde el punto de vista terapéutico puede expresarse que han sido diversos los procedimientos que han sido utilizados, la indicación sin excepción para tratar un tumor de comportamiento local comprende, el completo estado de salud y la edad de los pacientes que se someten a tratamiento (De la Cruz y col., 2004).

A principios del siglo XX, Sticker fué el primero que realizó una remisión quimioterapéutica con drogas antineoplásicas durante la sexta década, eventualmente en la octava década del siglo XX se utilizó vincristina como la principal elección en el protocolo de tratamiento (Boscos, 2004)

Anteriormente, el tratamiento para TVT solo se limitaba a la utilización quimioterapia, remisión quirúrgica y radioterapia, mientras que la inmunoterapia no ha tenido resultados eficaces (Boscos, 2004). Sin embargo en estudios recientes se ha utilizado como base terapéutica intralesional el bacilo Calmette-Guerin (BCG), el cuál ha ofrecido resultados eficaces de regresión tumoral en tan solo 63 días post- tratamiento, este sistema pudiese ser útil para la evaluación y eficacia de nuevos acercamientos inmunoterapéuticos, en neoplasias establecidas en animales, en este caso el TVT (Hess y col., 1997).

En cuanto a la remisión quirúrgica, esta se ha aplicado desde el siglo pasado, mostrando una tasa muy baja en cuanto a resultados eficacia (regresiones del 30-35 %, debido a que mediante la cirugía fueron transplantadas células tumorales en la herida), mientras que el empleo de un electrocauterio hace que la cirugía sea mas sencilla, sin embargo el tratamiento quirúrgico no es sugerido como la primera opción, por lo tanto, podría ser aplicado a aquellos pacientes que únicamente presentan pequeñas

nodulaciones, con una localización accesible, y de esta manera realizar realizar una resección menos invasiva (Boscos, 2004).

En el caso de las cirugías pudiese resultar un control a largo plazo y es por supuesto un procedimiento que reduce el índice de regresión, obviamente existen algunas desventajas como por ejemplo, retrasos en la cicatrización, y formación de tejido fibroso en órganos genitales y riesgos en el proceso quirúrgico como tal (Sousa y col., 2000).



**Figura 4.** Remisión quirúrgica del tumor venéreo transmisible canino.

Se presume que esta neoplasia es sumamente sensible a la irradiación, sin embargo, al carecer de personal calificado, así como los altos costos en mantenimiento del equipo hacen que su uso sea extremadamente limitado, por lo tanto su uso es recomendado en casos donde las primeras elecciones fallan (Boscos, 2004).

En cuanto al tratamiento con quimioterapia, se puede usar el sulfato de vincristina con una dosis de  $0.6 \text{ mg/m}^2$  de superficie corporal, una vez por semana, durante 2 a 6 semanas, tomando en cuenta algunos cuestionamientos:

- a) Tamaño de la neoplasia/grado
- b) Si hay o no presencia de metástasis

### c) Curso de la enfermedad

Los pacientes inducidos a tratamiento quimioterapéutico suelen recuperarse del todo, sin alterar el comportamiento y la capacidad reproductiva (Boscos, 2004).

Se menciona que los perros afectados menores de un año de edad en etapas iniciales de progresión, suelen ser tratados fácilmente con un resultado favorable, y el caso de cronicidad mayor a un año, es común notar resistencia al tratamiento, exigiendo una extensión de la terapia sin asegurar resultados acertados, el efecto en cuanto al tratamiento con sulfato de vincristina es alto, sin embargo, existen ciertas limitantes si el protocolo es interrumpido a la mitad de la terapia (Boscos, 2004).

Existen algunos nódulos que no presentan hemorragias después de haberse frotado (de menos de 0.5 cm), lo cual no es una razón suficiente y fundamentada de abandonar una terapia (Boscos, 2004).

Pueden surgir algunos efectos colaterales temporales por lo general 1 o 2 días posteriores a la terapia con vincristina tales como: anorexia parcial y depresión, y pudiese haber una ligera disminución en la cuenta de glóbulos blancos/leucopenia transitoria (Boscos, 2004), además de alopecia (poco significativa) y en muy pocas ocasiones indicios de náuseas, vómito y /o diarrea (Sousa y col., 2000).

Es sumamente importante que antes de iniciar la quimioterapia con vincristina, debe evaluarse el estado de salud general del paciente, y durante la terapia es necesario llevar la cuenta del número leucocitario, al menos en intervalos de una semana (Boscos, 2004).

### 5.5.1 Alternativa terapéutica

Protocolo COP (Ciclofosfamida, vincristina, prednisona). Este protocolo se administra en ciclos de 3 semanas (21 días). Consiste en el empleo de vincristina, ciclofosfamida y prednisona.

Semana 1 (día 1)

- A) Comenzar aplicando prednisona 1 mg/kg por día oral (continuar tratamiento todos los días).
- B) Sulfato de Vincristina 0,75 mg/m<sup>2</sup> EV.
- C) Ciclofosfamida 200-250 mg/m<sup>2</sup> oral durante 2-5 días

Semana 2 (día 10)

- A) Vincristina 0,75 mg/m<sup>2</sup> EV.

Semana 3 (día 21)

- A) Vincristina 0,75 mg/m<sup>2</sup> EV.

Semana 4 (día 28)

- A) Vincristina 0,75 mg/m<sup>2</sup> EV
- B) Ciclofosfamida 200-250 mg/m<sup>2</sup> oral durante 2-5 días (Ripa, 2006)

## **VI MATERIAL Y MÉTODOS**

### **6.1 Marco de referencia**

La Comarca Lagunera está situada en la parte central de la porción norte de los Estados Unidos Mexicanos. Se encuentra ubicada entre los meridianos 102° 22' y 104° 47' longitud oeste y los paralelos 24° 22' y 26° 23' latitud norte. La altura media sobre el nivel del mar es de 1,139 metros. Cuenta con una extensión montañosa y una superficie plana donde se localizan las áreas agropecuarias y urbanas.

La topografía de la Región Lagunera en términos generales es plana y de pendientes suaves, que varían de 0.20 a 1.0 metros por kilómetro, generalmente hacia el norte y el noroeste.

Está conformada por parte de los estados de Coahuila y Durango y debe su nombre a los cuerpos de agua que se formaban alimentados por dos ríos: el Nazas y el Aguanaval, hasta antes de la construcción de las presas Lázaro Cárdenas y Francisco Zarco, que en la actualidad regulan sus afluentes.

La Laguna, como comúnmente es conocida la región, está integrada por 16 municipios, 11 del estado de Durango y 5 del estado de Coahuila (INEGI, 1994; INEGI, 1998).

Este proyecto se llevó a cabo en clínicas ubicadas en esta Región Lagunera, comprendiendo el municipio de Gómez Palacio, Durango.

### **6.2 Fase de Campo**

Se tomaron 3 muestras de citología directamente de órganos genitales específicamente de tejido vaginal de hembras afectadas, aparentemente con signología relacionada a Tumor Venéreo Transmisible. Se remitieron en laminillas, fijadas en alcohol al 96% para tinción y subsecuente diagnóstico en

laboratorio, mediante citología vaginal exfoliativa utilizando como complemento la tinción de Papanicolau.

Al finalizar esta técnica y ser presentadas como positivas a TVT, posteriormente se tomaron muestras de tejido tumoral por medio de biopsia incisional.

### **6.3 Fase de laboratorio**

El estudio citológico se realizó en el laboratorio de patología de la Unidad de Diagnóstico del Departamento de Ciencias Médico Veterinarias de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Unidad Laguna.

Eventualmente se remitieron 3 muestras de tejido positivo a TVT a la Universidad Autónoma de México para evaluación por medio de microscopía electrónica de transmisión (MET)

#### **6.3.1 Consideraciones generales**

- a) La citología exfoliativa es el examen de células “descamadas” o individuales sin relación con la estructura arquitectónica general del tejido de origen. La recolección de células exfoliativas es una biopsia del tipo sin sangre porque las células se han descamado de la superficie de los recubrimientos de diversas cavidades o conductos corporales de las neoplasias.
- b) La citología debe ser un coadyuvante de la biopsia y del estudio histopatológico pero nunca un sustituto
- c) Los métodos simples y rápidos para el examen citológico de líquidos y masas sólidas pueden ayudar al médico que tiene acceso a una centrífuga y a una tinción simple
- d) Una prueba positiva es muy importante; la ausencia de células tumorales no excluye la presencia de neoplasia y puede considerarse como no concluyente ( Maxine, 1991)

### 6.3.2 Selección del material de estudio

Al extraer la muestra de tejido tumoral para su posterior remisión deben tomarse algunas consideraciones:

- Haber determinado que se quiere estudiar
- Revisión de la literatura
- Establecer protocolo de fijación
- Conocer el lugar a donde se llevará a procesar el material de estudio
- Conocer la persona que procesará y será responsable del proceso

#### Material

- Fijador a emplear: en este caso, se empleará glutaraldehído al 2.5%, pH 7.4, 0.1M
- Envases, tubos o viales (plástico o vidrio) nuevos
- Gradilla
- Superficie de corte: tablas de parafina
- Navajas de bisturi o de rasurar
- Pinzas o aplicadores de madera
- Pipetas de vidrio o plástico
- Caja de transporte con refrigerantes



**Figura 6.** Material requerido por el laboratorio de microscopía electrónica de la Universidad Nacional Autónoma de México (Cedillo, 2007).

## Metodología

- Preparación de la solución fijadora

10 ml de Glutaraldehido 2.5%, pH 7.4, 0.1M

En un tubo vacutainer, tipo falcon o probeta, agregar:

- 9.5 ml de solución amortiguadora
- 0.5 ml de Glutaraldehido 50%

Agitar hasta obtener mezcla homogénea (esta mezcla deberá ser cristalina en su totalidad)

- Selección de material de estudio:
  - En este caso, del tejido tumoral (TVT), se tendrán que recolectar fragmentos de 1 a 2 mm<sup>3</sup>
  - Depositarlos inmediatamente en la solución fijadora
- Tiempo de fijación: 2 horas (4°C)
- La cantidad de solución fijadora deberá cubrir en su totalidad el tejido seleccionado

Se puede obtener un fragmento de tejido de mayor tamaño, depositándolo en la superficie para corte (base de parafina) y manteniéndolo cubierto con la solución fijadora.

Una vez recolectadas las muestras, se mantienen libres de la luz y en refrigeración hasta su remisión al laboratorio. Las muestras se pueden proteger con papel aluminio.

Al ser recibidas en el laboratorio de Microscopía Electrónica, se llevaron a cabo una serie de pruebas para determinar si cumplían con los requisitos necesarios para su posterior procesamiento.

### 6.3.3 Descripción del procesamiento de las muestras

Si el tejido remitido para estudio de MET es mayor a 0.5 cm, tanto de grosor como ancho y largo, se procede a cortar el tejido (cubierto con 1 a 2 ml de solución fijadora o amortiguadora) sobre una base de parafina, con el fin de obtener fragmentos de 2 a 3 mm<sup>3</sup> para su procesamiento de rutina.

Una vez fijados (en el caso que corresponda) y fragmentados los tejidos, las muestras se lavan con la misma solución amortiguadora (solución amortiguadora de cacodilatos, pH 7.4, 0.1 M (5 lavados en movimiento de 10 min c/uno) y se posfijan con tetraóxido de osmio (OsO<sub>4</sub>) al 1% por una hora; transcurrido el tiempo de posfijación, se lavan las muestras (similar a lo descrito anteriormente) y se deshidratan con serie ascendente de etanoles (50, 70, 80, 90, 96, 100, 100 y 100%) (10 min en movimiento por cada dilución).

Posterior a la deshidratación, se emplea óxido de propileno como intermediario (dos tiempos de 15 min cada uno) y se infiltran (o preincluyen, son sinónimos) con mezcla de resina-óxido propileno relación 2:1 por una hora, cambiándose después a mezcla de resina-óxido propileno relación 1:1 por 72 horas a temperatura ambiente. Transcurrido el tiempo, se llevan a cabo dos cambios en resina (una hora a 60°C) para finalmente incluirse los tejidos en capsulas de agar embebidas con resina por 24 horas 60°C. Para las etapas de infiltración e inclusión se emplearon resinas epoxicas EMbed 812.

Una vez procesadas las muestras, se realizaron cortes semifinos de 120 a 150 nm de grosor, se montaron en portaobjetos y se tiñeron con azul de Toluidina con la metodología de rutina para su revisión por microscopía óptica convencional. Revisados los cortes semifinos, se realizaron los cortes finos de 70 a 80 nm de grosor, se montaron en rejillas de cobre de 200 mesh y se contrastaron con acetato de uranilo (20 min) y citrato de plomo (10 min).

Finalmente las muestras se revisaron en un microscopio electrónico de transmisión, Zeiss EM 900 a 50kv (Cedillo, 2007).

## **6.4 Antecedentes de Microscopia Electrónica de Transmisión**

El estudio de los virus y las enfermedades que desencadenan ha representado un reto y una necesidad para el avance de las ciencias biológicas, dentro de las cuales se encuentra la Medicina Veterinaria. Al final de los años sesenta, la microscopia electrónica (ME) fue empleada para el diagnóstico rápido de poxvirus humano, con base en su morfología, lo cual permitió diferenciarlo de los herpesvirus, causante de lesiones cutáneas ligeras. Posteriormente, la técnica fue empleada para el diagnóstico de la hepatitis tipo B y parvovirus B<sub>19</sub>, en medicina humana. La ME ha permitido el descubrimiento e identificación de muchos virus, relacionados con cuadros de gastroenteritis, tanto en medicina humana como en veterinaria, llegando incluso a contemplarse como la técnica de elección para la identificación de dichos agentes (Cedillo, et al., 2006)

El poder de resolución de los microscopios electrónicos ha permitido la observación y estudio detallado de estos agentes, lo cual era limitado con métodos convencionales de microscopia de luz. Los virus se clasifican en distintas familias, basado en la morfología viral y son las variaciones que presentan, la base para su identificación por ME (Cedillo y col., 2005)

### **6.4.1 Características del Microscopio Electrónico**

La potencia amplificadora de un microscopio óptico está limitada por la longitud de onda de la luz visible. El microscopio electrónico utiliza electrones para iluminar un objeto. Dado que los electrones tienen una longitud de onda mucho menor que la de la luz pueden mostrar estructuras mucho más pequeñas. La longitud de onda más corta de la luz visible es de alrededor de 4.000 ángstroms (1 ángstrom es 0,000000001 metros). La longitud de onda de los electrones que se utilizan en los microscopios electrónicos es de alrededor de 0,5 ángstroms.

En el microscopio electrónico, un haz de electrones incide sobre una muestra y de la interacción de estos electrones con los átomos de la misma, surgen señales que son captadas por algún detector o bien, proyectadas directamente sobre una pantalla.

El sistema óptico-electrónico del microscopio electrónico de transmisión está constituido por las siguientes partes:

1. Cañón de electrones
2. Sistema de lentes
3. Pantalla fluorescente

Estos componentes están ensamblados en una columna vertical la cual se encuentra en alto vacío.

El cañón de electrones, es la fuente emisora del haz de electrones. Se encuentra ubicado en la parte superior de la columna. Está constituido por un filamento (cátodo), un cilindro con una apertura central, llamado cilindro de Wehnelt que rodea al filamento y tiene un potencial ligeramente más negativo que éste. El ánodo se encuentra por debajo del cilindro de Wehnelt.

El filamento es calentado por el pasaje de corriente (alrededor de 2800 K). Los electrones emitidos termoiónicamente por el cátodo son acelerados hacia el ánodo, pasan por la apertura circular central de éste y un haz de alta energía es emitido hacia la columna del microscopio.

El sistema de lentes está formado por lentes condensadores objetivo, intermedia y proyectora. Las lentes condensadoras, en los microscopios, más modernos son dos. La primera, proyecta la imagen punto de entrecruzamiento demagnificada (spot size), mientras que la segunda controla su diámetro y el ángulo de convergencia en que incide sobre la muestra limita al haz que incide sobre la muestra.

La lente objetivo forma la primera imagen, localizada debajo del espécimen. Es considerada el componente más importante del microscopio electrónico. Cualquier defecto en ésta, será magnificado y transmitido al resto

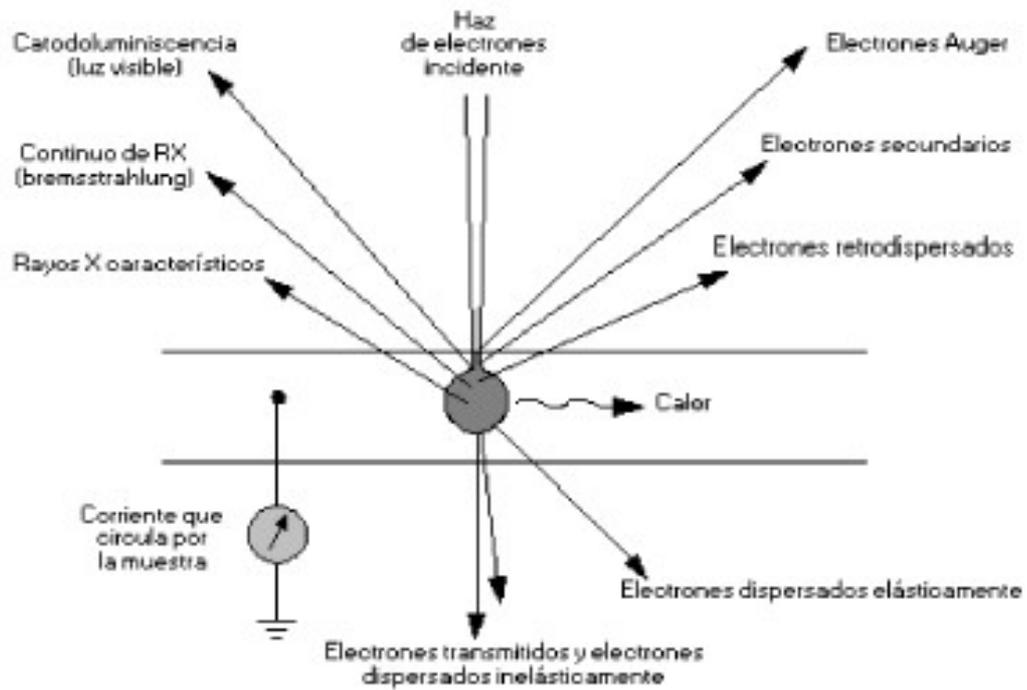
del sistema óptico. Por lo tanto, de ella dependen, en gran medida, la resolución final y la corrección de las aberraciones.

Las lentes intermedia y proyectora son las encargadas de amplificar la imagen dada por la lente objetivo y proyectarla sobre la pantalla fluorescente.

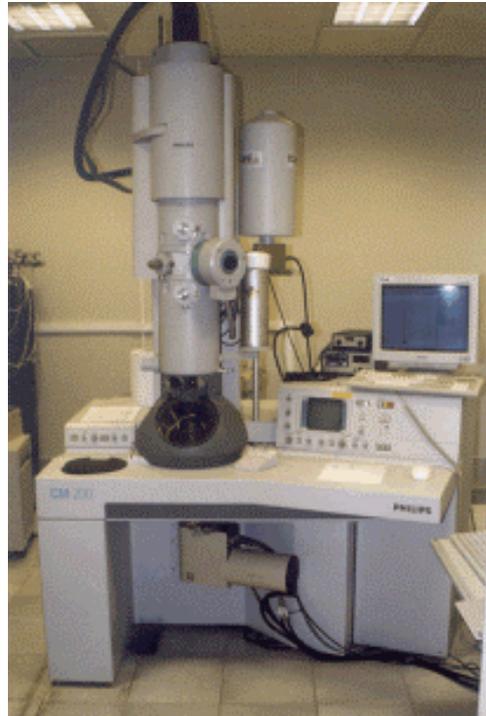
La pantalla del microscopio electrónico de transmisión está recubierta por una pintura de fluoruros de (Zn) y (Cd), que fluoresce cuando es bombardeada por electrones, generando una imagen en el rango de las longitudes de onda del visible.

Mediante el microscopio electrónico de transmisión podemos estudiar la ultraestructura de un material orgánico o inorgánico. Para esto, existen diferentes formas de operación que posibilitan el estudio de una característica en particular. Entre las aplicaciones del TEM para el estudio de materiales no-biológicos y biológicos podemos nombrar:

1. Determinación de estructura cristalina en minerales, metales, etc.
2. Estudio de catalizadores.
3. Determinación de impurezas, precipitados, etc.
4. Identificación de bordes de grano e interfaces en metales.
5. Estudio de fases y zonas cristalinas en polímeros.
6. Determinación de tamaño de partícula en catalizadores, minerales, etc.
7. Identificación de planos cristalinos.
8. Cambios estructurales de materiales sometidos a diferentes tratamientos térmicos.
9. Realización de estudios de histoquímica para identificar compuestos específicos.
10. Estudios de ultraestructura de tejidos vegetales y animales.
11. Reconocimiento de virus.
12. Estudios de citoquímica.
13. Estudios de estructuras moleculares.



**Figura 7.** La imagen muestra como esta constituido un microscopio electrónico de transmisión, y de que manera es captada la imagen a través del tejido.



**Figura 8.** La imagen muestra las partes que constituyen el Microscopio electrónico de transmisión.

## VII RESULTADOS

### RESULTADO DE MICROSCOPIA ELECTRÓNICA

Identificación: Caso 1

Especie: Canino

Raza: Criollo

Género: Hembra

Edad: 9 años

#### Descripción Citológica

Se observaron células epiteliales superficiales e intermedias en un fondo sucio proteináceo con detritos celulares y neutrófilos con flora bacteriana cocoide y presencia de células redondas con escaso citoplasma, moderado pleomorfismo con núcleo evidente, cromatina dispersa y escasas mitosis atípicas.

#### Diagnóstico Citológico

Tumor de estirpe mesenquimal con características citológicas benignas pero de comportamiento irregular. Los hallazgos encontrados sugieren a lo descrito en el tumor venéreo transmisible.

#### Descripción Ultraestructural

Se revisan secciones de tejido tumoral con pérdida moderada de su estado de preservación debido al método de fijación empleado, apreciándose células tumorales con dos patrones morfológicos distintos, en el primero se aprecian escasas células definidas y bien diferenciadas entremezcladas con células en diferente grado de degeneración (segundo grupo celular, abarcando del 85 al 90% del componente celular tumoral) y células inflamatorias.

Las células bien diferenciadas son de forma poliédrica a pleomórfica, presentando anisocitosis marcada con relación núcleo-citoplasma de 1:1 a 1:2. La membrana citoplasmática carece de definición en la mayoría de las células tumorales, debido al método de fijación empleado; el citoplasma es fino granular de moderada densidad con escasos organelos preservados donde se incluyen mitocondrias, aparato de Golgi, formaciones vesiculares, retículo endoplasmático rugoso y liso. El núcleo de las células es de poliédrico a pleomórfico con membrana nuclear definida presentando invaginaciones, indentaciones y pseudoinclusiones prominentes, cromatina fina granular de moderada densidad, de uno a dos nucleolos prominentes centrales de aspecto reticular o nucleolonematoso y escasos gránulos de peri e intercromatinianos electrodensos distribuidos aleatoriamente. En este tipo de células no se apreciaron estructuras sugerentes a partículas virales.

Las células en degeneración se encuentran compactadas de forma alargada, poliédrica o pleomórfica; presentan membrana citoplasmática no definida, contenido citoplasmático opaco y con mayor densidad en comparación con las células del grupo anterior; las mitocondrias y retículo endoplasmico se observan dilatados en grado ligero a severo, aunado a un incremento en formaciones vesiculares con contenido homogéneo de moderada densidad, el resto de los organelos no se aprecian definidos con claridad.

El núcleo presenta forma poliédrica a pleomórfica con invaginaciones, escotaduras y pseudoinclusiones evidentes, acumulos de cromatina plegados a la periferia, nucleolo prominente de aspecto grueso granular electrodensito. En este tipo de células no se apreciaron estructuras sugerentes de partículas virales.

El componente de células neoplásicas de ambos grupos representan del 40 al 50% del tejido evaluado, encontrándose entremezclado con abundantes células inflamatorias (linfocitos, macrófagos, neutrófilos), fibroblastos, abundante colágena, detritus celulares y vasos sanguíneos.

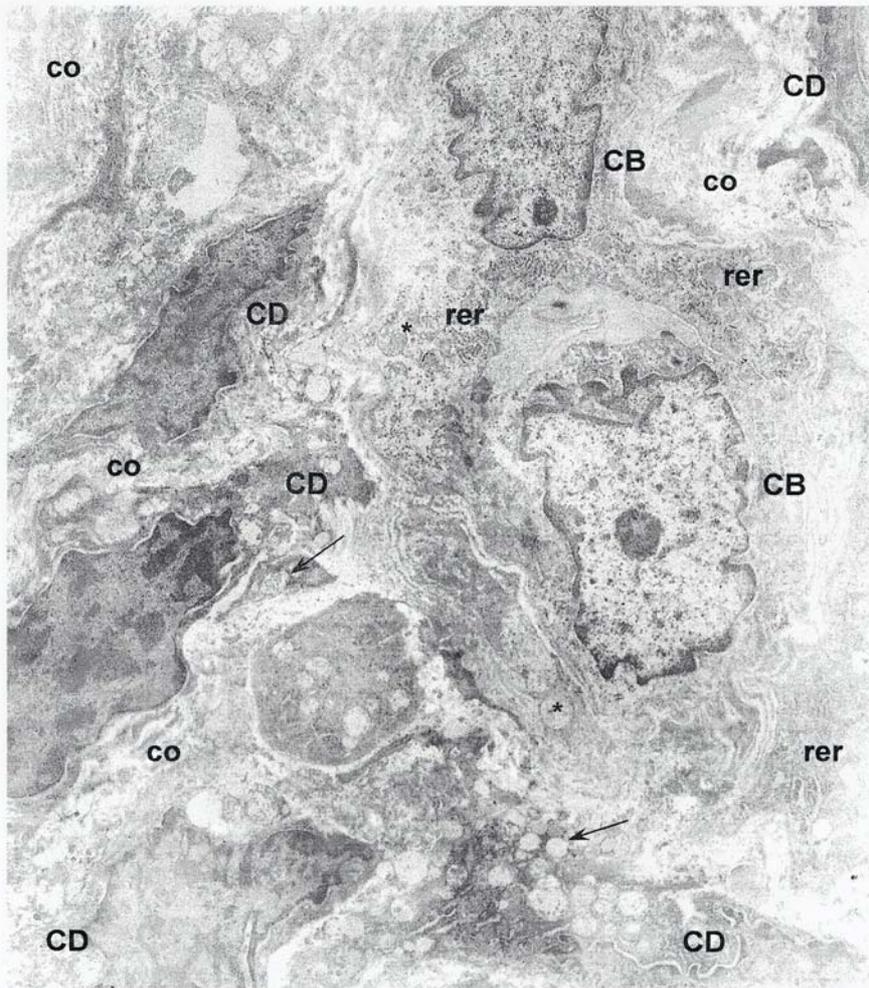
### **Diagnóstico Ultraestructural**

Células neoplásicas sugerentes a las descritas en el tumor venéreo transmisible

### **Comentario**

No se apreciaron partículas virales en el citoplasma o núcleo de las células evaluadas, ni cambios ultraestructurales sugerentes de replicación viral intracelular.

La mayoría del tejido evaluado presentó cambios degenerativos con presencia de respuesta inflamatoria y de reparación (fibroblastos y colágena), que con base en la literatura, son elementos presentes en tumores en estado de involución o regresión.



**Figura A.** Componente celular del tejido tumoral evaluado. Del lado izquierdo de la imagen se observan células degeneradas (CD) de forma y núcleo pleomorfo con nucleolos prominentes; el citoplasma es escaso y contraído, de moderada densidad, presentando formaciones vesiculares (flechas) de diferentes tamaños, intersticialmente se observan paquetes irregulares de colágena (co) en diferente cantidad; del lado derecho se aprecian células bien diferenciadas (CB) de forma pleomorfo con presencia en citoplasma de retículo endoplasmico rugoso (rer) y mitocondrias (\*), el núcleo es pleomorfo con indentaciones evidentes y nucleolo prominente. Aumento: 3000x.

## **RESULTADO DE MICROSCOPIA ELECTRÓNICA**

Identificación: Caso 2

Especie: Canino

Raza: Criollo

Género: Hembra

Edad: 10 años

### **Descripción Citológica**

Se observaron células epiteliales superficiales e intermedias en un fondo sucio proteináceo con detritos celulares y neutrófilos con flora bacteriana cocoide y presencia de células redondas con escaso citoplasma, moderado pleomorfismo con núcleo evidente, cromatina dispersa y escasas mitosis atípicas.

### **Diagnóstico Citológico**

Tumor de estirpe mesenquimal con características citológicas benignas pero de comportamiento irregular. Los hallazgos encontrados sugieren a lo descrito en el tumor venéreo transmisible.

### **Descripción Ultraestructural**

Se revisan secciones de tejido compuesto por células fusiformes y paquetes de colágena, de laxo a denso irregular, con presencia de formaciones acinares y pseudoglandulares compuestas por células de tipo epitelial; así mismo, se aprecian escasos vasos sanguíneos.

Sin diagnóstico, material inadecuado

### **Comentario**

El tejido remitido para estudio ultraestructural no corresponde con el referido en la historia clínica, posiblemente sea tejido adyacente al tumor, como la mucosa vaginal.

## **RESULTADO DE MICROSCOPIA ELECTRÓNICA**

Identificación: Caso 3

Especie: Canino

Raza: Criollo

Género: Hembra

Edad: 12 años

### **Descripción Citológica**

Se observaron células epiteliales superficiales e intermedias en un fondo sucio proteináceo con detritos celulares y neutrófilos con flora bacteriana cocoide y presencia de células redondas con escaso citoplasma, moderado pleomorfismo con núcleo evidente, cromatina dispersa y escasas mitosis atípicas.

### **Diagnóstico Citológico**

Tumor de estirpe mesenquimal con características citológicas benignas pero de comportamiento irregular. Los hallazgos encontrados sugieren a lo descrito en el tumor venéreo transmisible.

### **Descripción Ultraestructural**

Se revisan secciones de tejido tumoral con pérdida moderada de su estado de preservación debido al método de fijación empleado, apreciándose células tumorales con dos patrones morfológicos distintos, en el primero se aprecian escasas células definidas y bien diferenciadas (abarcando del 80 al 85% del componente celular tumoral); mientras que el segundo grupo lo conforman células con diferente grado de degeneración.

Las células bien diferenciadas son de forma redondeada a poliédrica, con escasas células de aspecto morfológico. Las células presentan anisocitosis moderada con relación núcleo-citoplasma de 1:1 a 1:2. La membrana citoplasmática carece de definición en la mayoría de las células tumorales, debido al método de fijación empleado; el citoplasma es fino granular de moderada densidad con escasos organelos preservados donde se incluyen mitocondrias, aparato de Golgi, formaciones vesiculares, retículo endoplásmico rugoso y liso; en algunas células se observó formación de estructuras tubulares embebidas en el citoplasma. El núcleo de las células era redondeado, oval o arriñonado con membrana nuclear definida presentando de forma aleatoria discretas invaginaciones y pseudoinclusiones, cromatina fina granular de moderada densidad, de uno a dos nucleolos prominentes centrales de aspecto reticular o nucleolonematoso y escasos gránulos de peri e intercromatinianos electrodensos distribuidos aleatoriamente. En este tipo de células no se apreciaron estructuras sugerentes a partículas virales.

Las células en degeneración presentan forma alargada, poliédrica o pleomórfica, membrana citoplasmática no definida, contenido citoplasmático opaco y con mayor densidad en comparación con las células del grupo anterior; las mitocondrias y retículo endoplásmico se observan dilatados en grado de ligero a severo, aunado a un incremento en formaciones vesiculares con contenido homogéneo de moderada densidad, el resto de los organelos no se aprecian definidos con claridad.

El núcleo presenta forma poliédrica a pleomórfica con invaginaciones, escotaduras y pseudoinclusiones evidentes, acumulos de cromatina plegados a la periferia, nucleolo prominente de aspecto grueso granular electrodenso; en el interior del núcleo de varias células se aprecia de forma aleatoria acumulos de partículas poliédricas electrodensas no definidas, midiendo entre 35 a 42 nm de diámetro, siendo más grandes que el diámetro de los gránulos intercromatinianos (20 25 nm), los cuáles son escasos en este tipo de células.

El componente de células neoplásicas de ambos grupos representan del 50 al 60% del tejido evaluado, encontrándose entremezcladas con tejido conjuntivo, colágena, vasos sanguíneos, detritus celulares y escasos linfocitos.

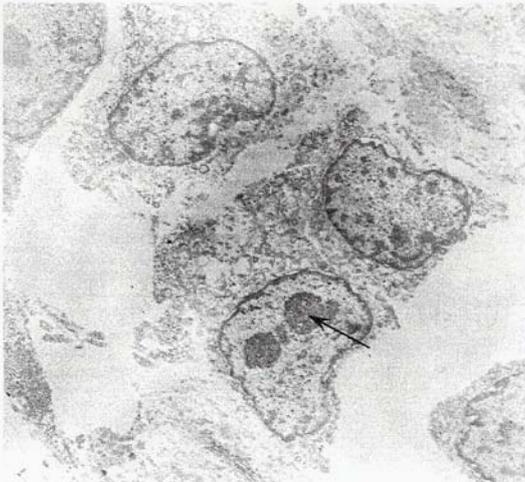
### **Diagnóstico Ultraestructural**

Células neoplásicas sugerentes a las descritas en el tumor venéreo transmisible, con presencia de algunas células en degeneración de partículas intranucleares electrodensas de origen no determinado.

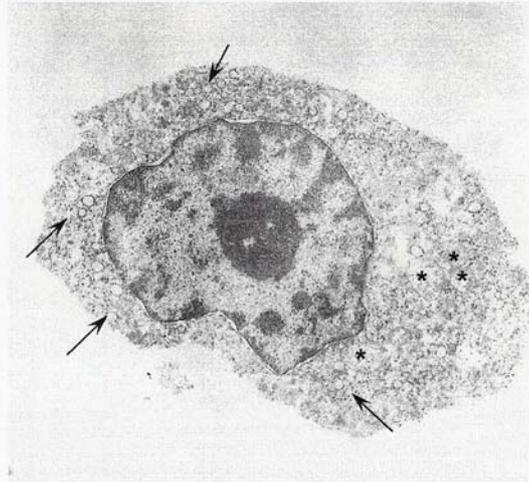
### **Comentario**

No se apreciaron partículas virales en el citoplasma o núcleo de las células evaluadas, ni cambios ultraestructurales sugerentes de replicación viral intracelular.

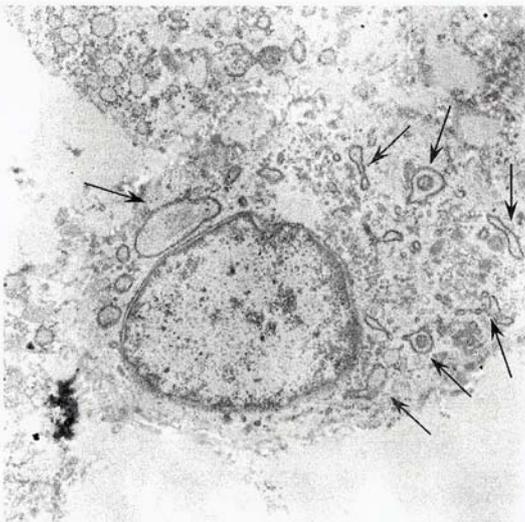
Las partículas intranucleares antes descritas se encuentran dentro del rango de algunos virus descritos para mamíferos como son parvovirus, papilomavirus, picornavirus o coronavirus, en embargo su morfología no es definida ni presentan algún arreglo en particular como lo descrito para las familias de virus mencionadas. Así mismo, debido al estado de preservación (método de fijación) y al estado biológico en el que se encuentran las células (células en degeneración), las partículas referidas podrían corresponder a agregados o precipitados de cromatina, proteína y/o fibras intranucleares, son poder determinar en este caso su origen.



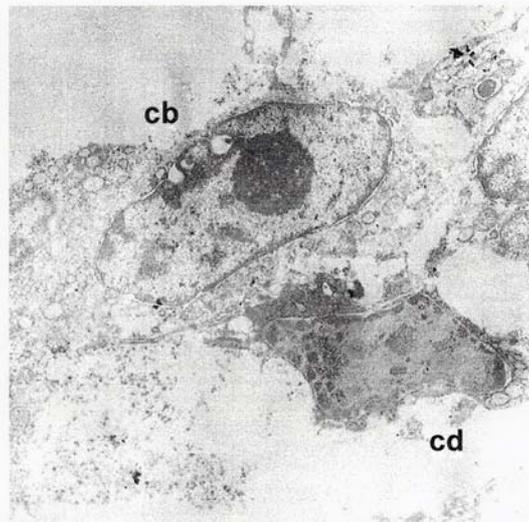
**Figura A.** Conjunto de células neoplásicas bien diferenciadas, de forma y núcleo poliédrico con y sin nucleolos prominentes (flecha); a nivel del citoplasma se conservan algunos organelos como retículo endoplasmico, vesículas y mitocondrias. Aumento: 3000x.



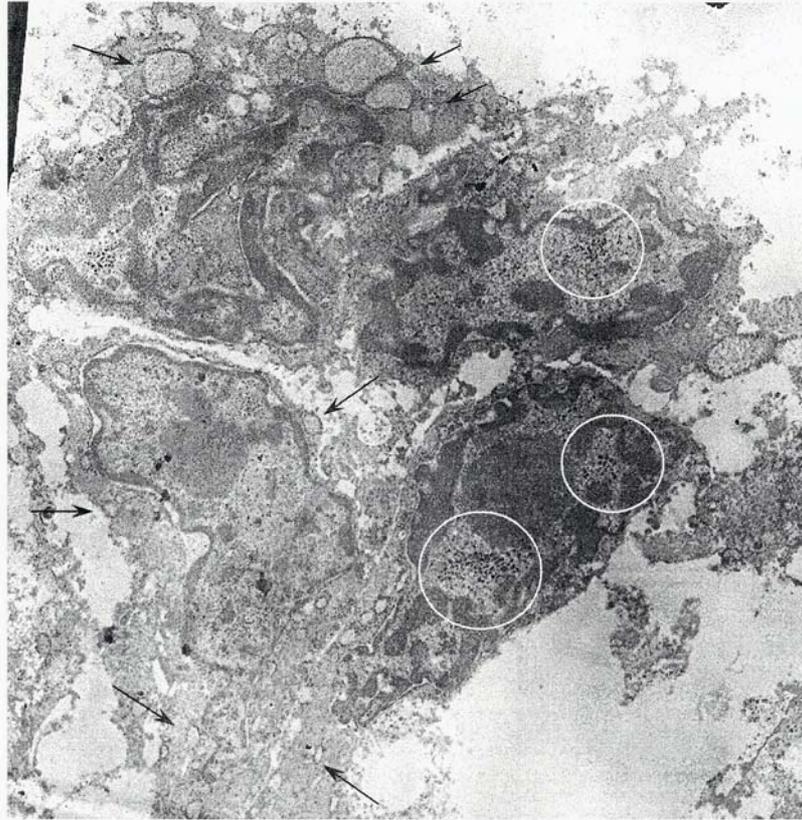
**Figura B.** Célula neoplásica bien diferenciada, de forma arriñonada sin definición de membrana plasmática; en citoplasma se observan vesículas pequeñas (flechas) y mitocondrias ligeramente tumefactas (\*); el núcleo es arriñonado con nucleolo prominente. Aumento: 7000x.



**Figura C.** Célula neoplásica bien diferenciada presentando en citoplasma estructuras tubulares y pseudovesiculares con diferente morfología (flechas). Aumento: 7000x



**Figura D.** Comparación de tipos de células neoplásicas, se observa en la parte superior célula bien diferenciada (cb) e inferiormente una célula degenerada (cd). Aumento: 4400x.



**Figura E.** Conjunto de células neoplásicas en degeneración de forma y núcleo pleomórfico con nucleolos prominentes; el citoplasma es escaso y contraído, con mayor densidad en comparación con las células neoplásicas bien diferenciadas, presentando formaciones vesiculares (flechas) de diferentes tamaños; observándose en el interior de algunos núcleos, partículas electrodensas (circulo) no definidas. Aumento: 3000x

## **7.1 Análisis de Resultados**

Los resultados obtenidos indican que del 100% de las muestras remitidas a citología exfoliativa de tejido neoplásico genital, positiva a tumor venéreo transmisible y analizadas por medio de microscopio electrónico de transmisión, ninguna arrojó resultados positivos y/o presencia de partículas virales en citoplasma o núcleo de las células en evaluación, ni cambios ultraestructurales sugerentes de replicación viral.

## VIII DISCUSIÓN

TVT es considerada una neoplasia benigna que afecta únicamente a caninos, tanto a hembras como a machos en edad reproductiva afectando los órganos genitales externos y ocasionalmente internos (Mello Martins y col., 2005).

Nuestros resultados coinciden con los de Cockrill; (1975) que hace referencia de TVT como un tumor de células redondas, que, al llevar a cabo un estudio ultraestructural observó que las células tumorales en degeneración consisten en cambios citoplasmáticos durante sus múltiples estadios tumorales, por lo tanto los cambios avanzan en base a dicha degeneración; al igual que Amber y col. (1985) que reportan únicamente en dos pacientes caninos, que las células degeneradas y necróticas son caracterizadas principalmente por una aparente vacuolización del citoplasma y la pérdida de los organelos normales existentes. Del mismo modo en algunas investigaciones se menciona la presencia de partículas virales tipo "C" en tejido de desarrollo y crecimiento en las células del tumor venéreo transmisible, al igual que González-Angulo y Hernández Jáuregui que reportaron un hallazgo similar de partículas virales intracitoplasmáticas en estas mismas células, sin embargo, desafortunadamente no se tuvieron hallazgos que ayudasen a trascender mas allá estas investigaciones (Amber y col., 1985).

## IX CONCLUSIÓN

Se obtuvieron 3 muestras para citología vaginal de hembras caninas sospechosas a TVT, las cuáles se remitieron para su análisis al Laboratorio de Diagnóstico de la Universidad Antonio Narro, Unidad Laguna, arrojando resultados positivos a dicha neoplasia.

Eventualmente se tomaron 3 biopsias de tejido tumoral de dichas hembras caninas, para su posterior evaluación por medio de MET en la Universidad Nacional Autónoma de México, y los resultados obtenidos sugieren que en las muestras remitidas no hubo ningún hallazgo referente a partículas virales en citoplasma o núcleo de las células evaluadas, ni cambios ultraestructurales sugerente a replicación viral.

La mayor parte del tejido evaluado presentó cambios degenerativos con presencia de respuesta inflamatoria y/o de reparación (fibroblastos, colágena) que con base en la literatura son elementos presentes en las neoplasias en estado de involución o regresión.

De acuerdo a lo expuesto y a las investigaciones revisadas se sugiere realizar estudios más completos en caninos con TVT, ya que no puede ser aún descartada la posibilidad de que en algún estadio de la neoplasia se encontrasen cambios en la ultraestructura sugerentes a alguna replicación viral. Se recomienda el uso de microscopía electrónica como medio de evaluación celular.

## X LITERATURA CITADA

- Adams W.E, Carter P.L y Sapp J.W. 1968. Growth and Maintenance of the Canine Venereal Tumor in Continuous Culture. *Cancer research* 28:753-757.
- Amber, E.I., Isitor, G.N, y Adeyanju, J.B. 1985. Viral-like particles associated with naturally occurring transmissible venereal tumor in two dogs: Preliminary report. *Am J Vet Res* 46(12).
- Barceló de la Isla, R. 2007. Tumor venéreo transmisible. *Revista electrónica veterinaria* 42: 48-52.
- Beletti, M.E, Fontoura C.L, y Andrade W.K. 2004. Morphometry of the cellular nuclei as diagnosis method of the histiocytoma, transmissible venereal tumor (TVT) and mastocytoma in dog. *Cancer research* 10:197-204.
- Beschorner, W.E, Hess, A.D, Nerenberg, S.T, y Epstein, R.B. 1979. Isolation and Characterization of Canine Venereal Tumor-associated Inhibitory and Blocking Factors. *Cancer research* 39:3920-3927.
- Birchard, S.J. Sherding, R.G. 1996. Manual clínico de pequeñas especies. Mc Graw Interamericana.
- Boscos, C.M, y H.N. Ververidis. 2004. Canine TVT--Clinical Findings, Diagnosis and Treatment. World Congress, Rhodes.
- Butel, J.S. 2000. Viral carcinogenesis: revelation of molecular mechanisms and etiology of human disease. *Carcinogenesis* 21(3): 405-426.
- Calero, H. Eustace, R. y Rodríguez, J.C. 2006. Comprobación de la efectividad de dos esquemas terapéuticos en el tratamiento del Tumor de Sticker en perros. *Revista Electrónica de Veterinaria*. 7(10):1695-1704.
- Cedillo, P.C. 2007. Descripción del procesamiento de muestras para microscopia electrónica de transmisión (MET). Universidad Nacional Autónoma de México Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Departamento de Patología, Unidad de Microscopía Electrónica.
- Cedillo, P.C, Salas, G.G, y Constantino, F.C. 2005. Diagnóstico ultraestructural de agentes virales: estudio recapitulativo de 1996 a 2005. Unidad de Microscopia Electrónica, Departamento de Patología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México
- Cedillo, P.C. 2007. Selección de material de estudio. Unidad de Microscopia Electrónica, Departamento de Patología. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM.

- Cockrill, J.M, y Beasley, J.N. 1975. Ultrastructural characteristics of canine transmissible venereal tumor at various stages of growth and regresión. *Am J Vet Res*, 36:(5).
- Delgado, E.I, Rojas, M.A, Barrera, S.H, y Ortíz, L.R. 2004. Los virus: Una importante causa de neoplasias en los seres humanos. *Rev Invest Clin*; 56 (4): 495-506.
- De la Cruz, M., Cuesta, G., y Valera Y. 2004. Ocurrencia y medidas para el control del sarcoma de Sticker en una comunidad rural del Municipio Bayazo. *Revista electrónica veterinaria* 18: 63-71.
- De Nardi, A.B, Rodaski, R,S, Costa, T.A, Macedo, T.R, Rodigheri, S.M, Rios, A y Piekarz, C.H. 2002. Prevalencia de neoplasias e modalidades de tratamientos em caes, atendidos no hospital veterinario da universidade federal do paraná. *Archives of veterinary science* 7 (2): 15-26.
- Duncan, J.R, y Prasse, K.W. 1979. Cytology of canine cutaneous round cell tumors. Mast cell tumor, histiocytoma, lymphosarcoma and transmissible venereal tumor. *Vet Pathol*;16(6):673- 679.
- Epstein, R.B, y Bennett B.T. 1974. Histocompatibility Typing and Course of Canine Venereal Tumors Transplanted into Unmodified Random Dogs. *Cancer research* 34: 788-793.
- Gurel, A., Kuscu, B.E., Gulanber, E.G, y Arun, S.S. 2002. Transmissible venereal tumors detected in the extragenital organs of dogs. *Israel Journal of veterinary medicine* 57 (Parte 1) 23-27.
- Goldschmidt M.H, y Hendrick M.J. 2002. Tumors of the Skin and Soft Tissues. In: Meuten DJ, editor. *Tumors in Domestic Animals*. Iowa State Press, Ames,Iowa 45-117.
- Hess, A.D, Catchatourian, R, Zander, A.R, y Epstein, R.B. 1977. Intralesional Bacillus Calmette-Guerin Immunotherapy of Canine Venereal Tumors. *Cancer research* 37: 3990-3994.
- Hill, D.I, Yang, T.J, y Wachtel, A. 1984. Canine transmissible venereal sarcoma: Tumor cell and infiltrating leukocyte ultrastructure at different growth stages. *Vet. Pathol.* 21:39-45.
- INEGI. 1998. Anuario Estadístico del Estado de Coahuila. p. 3-4, 6,14-15.
- INEGI. 1994. Anuario Estadístico del Estado de Durango. p. 3-4, 13-14.
- Kamran, A., Madoff, D.C., Gupta, S., Wallace, M.J., Price, R.D., y Wright, K.C. 2002. Development of a Large Animal Model for Lung Tumors. *J Vasc Interv Radiol*; 13:923–928

- Khosravi S.P, Del Castillo R.A, De Portugal A.J. 2004. Neoplasias de origen desconocido. *Rev Biomed* 21(10): 501-506.
- Kuang-Wen Liao, Zei-Yi Lin, Hai-Nie Pao, Sook-Yee Kam, Fun-In Wang, y Rea-Min Chu. 2003. Identification of canine transmissible venereal tumor cells using in situ polymerase chain reaction and the stable sequence of the long interspersed nuclear element. *J Vet Diagn Invest* 15:399–406.
- Martínez, M. Ballut, J., y Cardona, C. 2002. Tumor venéreo transmisible (TVT) de localización extragenital. *Rev Biomed* 7(1):168-170.
- Maxine, M.B. 1991. Manual de patología clínica veterinaria. Editorial Limusa
- Medrano, M.L , Arahú A.U, Fabela B.V, Guzmán J. E, Ilescas F. S, Díaz G. A, Gutiérrez C.A, y Fajardo M.R. 2007. Tumor venéreo transmisible intranasal. XVI Congreso Nacional de Patología Veterinaria, Mazatlán Sinaloa.
- Mello Martins, M.I., de Souza, Ferreira, F., y Gobello, C. 2005. Canine transmissible venereal tumor: Etiology, pathology, diagnosis and treatment. *Recent Advances in Small Animal Reproduction*. Retrieved on 2006-05-25.
- Ortega, P. Acevedo, A. Sauri, A. Bolio, G. Gutiérrez, B. 2003. Prevalencia de Tumor venéreo transmisible en perros callejeros de la ciudad de Mérida Yucatán, México. *Rev Biomed*; 14:83-87.
- Park, Y.K., Kang, S., Cho, Shin, y Kim. 2006. Disseminated transmissible venereal tumor in a dog. *J Vet Diagn Invest*; 18(1): 130–133.
- Peters, G. 1990. Oncogenes at Viral Integration Sites. *Carcinogenesis* 1:503-510
- Radi, Z.A. 2005. Vulvar lipoleiomyoma in a dog. *J Vet Diagn Invest* 17:89–90
- Ramírez, R.R., García J.A, García H. J, Nevárez, A.M y Rodríguez L.E. 2007. tumor venéreo transmisible con metástasis a un hemangioma esplénico en una perra. XVI Congreso Nacional de Patología Veterinaria, Mazatlán Sinaloa.
- Rangel, R.I. 2002. Toma de muestras cito-histopatológicas. Curso de oncología en pequeñas especies, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM.
- Ripa, M.I. 2006. DATA VET. Fort Dodge. Edit. Inter-médica

- Rogers, K.S., Walker, M.A y Dillon H.B. 1998. Transmissible venereal tumor: a retrospective study of 29 cases. *Journal of the American Animal Hospital Association*,34(6):463-470
- Runnells, R.A., W.S. Monlux, y A.W. Monlux. 1982. Principios de patología veterinaria. CIA. Editorial Contiental.
- Sousa, J., Saito, V, Nardi, A.B, Rodaski, S, Guérios, S.D, y Bacila, M. 2000. Características e incidencia do tumor venéreo transmissível (TVT) em cães e eficiencia da quimioterapia e outros tratamentos. *Archives of veterinary science* 5:41-48.
- Taci Cangul. 2001. Improved classification, diagnosis and prognosis of canine round cell tumours. *Veterinary Sciences Tomorrow* 4: 11-13
- Trigo, T.F.J. 1998. Patología Sistémica Veterinaria. McGraw-Hill Interamericana, tercera edición 191-192.
- Yáñez, M.J, Sorrivas, L.V. Microscopia electronica.  
<http://www.criba.edu.ar/cribabb/servicios>
- Yang TJ. 1998. Immunobiology of a spontaneously regressive tumor, the canine transmissible venereal sarcoma. *Anticancer Res*; 8:93–95.
- Yang TJ. 1987. Regression of canine transmissible venereal sarcoma. *J Am Vet Med Assoc* ; 10:191-196.