



Universidad Nacional de La Plata
Facultad de Ciencias Veterinarias
Especialización en Diagnóstico Veterinario de
Laboratorio

PLAN DE TRABAJO FINAL INTEGRADOR

Título: Estudio retrospectivo de medulograma como herramienta diagnóstica en procesos linfoproliferativos

ALUMNO: Mev Vet Romina Pretti

DIRECTOR: Dra Massone Adriana

CODIRECTOR: Especialista Fontana Lorena

Dedicatoria

A mis padres que me dieron la oportunidad de estudiar esta hermosa carrera

Agradecimientos

A mi directora Dra Massone Adriana por la correcciones hechas en este trabajo

A mi Codirectora Fontana Lorena por la dedicación en corregirme y aconsejarme en el trabajo

Al Dr Savignone Cesar por ayudarme en la estadística y dar sus opiniones constructivas en este trabajo.

A la Dra Arauz Sandra por apoyarme siempre en mis proyectos y darme el empuje para crecer día a día.

A mis compañeras del laboratorio central de Análisis clínicos.

A mis compañeros de la Cátedra de Patología Especial.

A mis amigos que me acompañan en la vida.

Indice

Resumen.....	3
Introducción.....	4
Introducción al medulograma.....	9
Hipótesis.....	10
Objetivo general.....	10
Objetivo particular.....	10
Materiales y métodos.....	10
Resultados	11
Discusión.....	12
Conclusiones.....	14
Bibliografía.....	15

Resumen

Dentro de los procesos oncohematológicos más frecuentes en medicina veterinaria se encuentran las leucemias y el linfoma. La leucemia se define como una enfermedad maligna progresiva caracterizada por la proliferación autónoma de leucocitos y sus precursores en médula ósea y sangre periférica

Siempre a las neoplasias linfoides (que afectan a la médula ósea y a la sangre) se las ha diferenciado de los linfomas que solo tienen compromiso ganglionar, pero hoy en día se sabe que las leucemias pueden tener un comportamiento similar al linfoma y que muchos linfomas pueden infiltrar médula ósea comportándose como una leucemia

En algunos casos, no es sencillo diferenciar entre LLC que puede presentar linfadenopatía leve a moderada y el linfoma en estadio V (donde el mismo invade la médula ósea) con presencia de blastos en sangre circulante

Objetivos : Establecer, a través del medulograma, el diagnóstico diferencial entre ambas patologías.

Material y métodos: se analizó la médula ósea de 60 paciente caninos con proceso linfoproliferativos (leucemia linfocítica crónica/linfoma) que asistieron al Hospital Escuela de la Facultad de Ciencias Veterinarias de La Universidad Nacional de La Plata, al Hospital Escuela de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad de Buenos Aires y aquellos derivados al servicio privado por colega.

Resultados : se investigó 60 pacientes que presentaban linfadenopatía , a través de la punción de médula ósea, se concluyó que 55 eran LLC , era variable la infiltración medular con linfocitos maduros , algunos presentaban linfoblastos, otros anemia y trombocitopenia y muchos trombocitopenia solamente. La esplenomegalia así como la linfadenopatía era insconstante . Se observó más en machos caninos adultos.

Introducción

Dentro de los procesos oncohematológicos más frecuentes en medicina veterinaria se encuentran las leucemias y el linfoma. La leucemia se define como una enfermedad maligna progresiva caracterizada por la proliferación autónoma de leucocitos y sus precursores en médula ósea y sangre periférica. (Meza, 2012).

Estas células neoplásicas se mantienen como un clon de células inmaduras no funcionales que no sufren procesos de diferenciación, maduración o apoptosis. (Sánchez Visconti y col., 2013).

La médula ósea de los perros que padecen esta enfermedad genera leucocitos que invaden la sangre, pero que son incapaces de proteger el organismo. Como consecuencia de esta incapacidad, el sistema inmunológico del animal es afectado y resulta susceptible de contraer diferentes enfermedades (Ettinger y Feldman, 2007).

En caninos, las leucemias constituyen menos del 10% de las neoplasias hematopoyéticas, por lo que se consideran enfermedades raras (Couto, 2005).

Hay dos amplias categorías de leucemias basadas sobre la línea celular mieloide y linfoide, más conocido como:

- Síndrome mieloproliferativo: definido como un trastorno de origen clonal, en medicina humana se describen 7 tipos, entre ellas la leucemia mieloide) (Leyto-Cruz F, 2018). No será desarrollado en el presente trabajo.
- Síndrome linfoproliferativo: se define como un trastorno de origen clonal que afecta a las células linfoides (T, B o plasmáticas), donde se observa la proliferación de células linfocíticas que tienden a invadir ganglios linfáticos y bazo, así como también la médula ósea y la sangre periférica, representando el 84% de las neoplasias hematopoyéticas en el perro, siendo el linfoma el más frecuente en un 90% de los casos.

En este síndrome podemos encontrar:

- Neoplasias de células linfoides inmaduras.
Leucemia linfoblástica aguda (LLA).
- Neoplasias de células linfoides maduras.
 - Leucemia linfocítica crónica (LLC).
 - Linfoma.
 - Mieloma múltiple (MM).

La diferenciación entre leucemia aguda o crónica se basa en la morfología celular, en la diferenciación de las células neoplásicas y en el curso de las mismas (Wellman, 2015).

Siempre a las neoplasias linfoides (que afectan a la médula ósea y a la sangre) se las ha diferenciado de los linfomas que solo tienen compromiso ganglionar, pero hoy en día se sabe que las leucemias pueden tener un comportamiento similar al linfoma y que muchos linfomas pueden infiltrar médula ósea comportándose como una leucemia (Ruiz de Adana Pérez, 2015).

En caninos la presentación multicéntrica de linfoma (no Hodgkin) es la más frecuente donde se puede observar linfadenopatía como único signo clínico, debiéndose

usar un esquema de estadificación ideado por la World Health Organization (WHO) que toma en cuenta el grado de metástasis, invasión y signos clínicos; a través de la misma puede definirse el tratamiento a realizar (Seeling, 2016).

Esquema de estadificación de linfoma canino (who)

Estadio I: involucra un solo ganglio.

Estadio II: linfadenopatía regional (restringido a un lado del diafragma).

Estadio III: linfadenopatía generalizada.

Estadio IV: hepatoesplenomegalia (con o sin linfadenopatía).

Estadio V: infiltración de médula ósea, sistema nervioso central o cualquier otro sitio extranodal; este estadio a su vez puede presentar dos subestadios: (Burkhard y Bienze 2013).

- 1) sin signos clínicos.
- 2) con signos clínicos de enfermedad.

En el caso de las leucemias linfocíticas la presentación más frecuente es la de curso crónico.

La LLC es una proliferación monoclonal, en la mayoría de los casos de linfocitos B de escasa capacidad de multiplicación, de aspecto maduro y de vida media muy larga por un defecto de la apoptosis (muerte celular programada). Debido a ello, los linfocitos se acumulan e invaden los ganglios linfáticos, la médula ósea y la sangre periférica.

En veterinaria no hay antecedentes epidemiológicos sobre su presentación (como suele suceder en medicina humana).

En los animales afectados se observa adenopatía, esplenomegalia (en las etapas más avanzadas) y a veces hepatomegalia. En las etapas iniciales de la enfermedad, los hallazgos clínicos pueden ser mínimos y en otros se manifiesta con fiebre, sangrado (petequias, equimosis) y dolor óseo. En una pequeña proporción de los pacientes la linfadenopatía no se acompaña de un aumento de linfocitos en sangre, sus células tienen una mutación que les hace adherirse más fuertemente a los tejidos y no permite que circulen por la sangre en gran número. (De La Serna Torroba, 2015).

Suele ser una enfermedad indolente, que puede cursar con citopenia periférica. (Avery y col., 2007). En medicina humana, para arribar al diagnóstico de LLC, la médula ósea debe estar infiltrada con un 30% de linfocitos, en cambio en medicina veterinaria, se diagnostica LLC cuando la infiltración es del 13% (Sicrais Mainar y col., 2016).

En la mayoría de los casos la LLC cursa con aumento de linfocitos en el recuento absoluto de sangre periférica (5.000/ul). Los linfocitos suelen registrar cifras superiores a 10.000/ul y, en ocasiones, pueden ser muy elevados (300.000/ul). La hemoglobina (Hb) y las plaquetas suelen presentar valores normales o estar disminuidos. La anemia, cuando existe, suele ser normocítica y normocrómica (debido a infiltración medular por linfocitos), o estar asociada a un déficit de hierro por acción de citoquinas (IL1, INF y TNF) que a su vez interfiere en la síntesis de eritropoyetina (Ruiz de Gaona y col., 2007). No obstante, también puede instaurarse una anemia hemolítica autoinmune (10 %), en cuyo caso se observan alteraciones de la morfología eritrocitaria, tales como esferocitos, policromasia y la presencia de algunos normoblastos; dicha anemia puede ser “espontánea” por la

producción de autoanticuerpos contra los glóbulos rojos o inducida por fármacos (en menor medida), o por hiperesplenismo, también puede afectar a las plaquetas (púrpura trombocitopénica) y/o a los neutrófilos (neutropenia) (Gamberale, 2012).

En medicina humana se consideran elementos de diagnóstico al descenso de la Hb, aumento de la enzima lactato deshidrogenasa (LDH), bilirrubina y disminución de la haptoglobina (Grecco y col., 2017).

En algunos casos, no es sencillo diferenciar entre LLC que puede presentar linfadenopatía leve a moderada y el linfoma en estadio V (donde el mismo invade la médula ósea) con presencia de blastos en sangre circulante (Dobson y col., 2006).

Hay varias formas de presentación de LLC, observándose en medicina humana que en algunos pacientes progresa lentamente, en las cuales hay cambios mínimos en sus conteos de células sanguíneas (linfocitosis, poca o mínima reducción en la cantidad de glóbulos rojos, conteos normales de neutrófilos y plaquetas) manteniéndose la enfermedad estable durante años. En otros pacientes con LLC las células se acumulan en la médula ósea y en la sangre, y hay una disminución importante en la cantidad de glóbulos rojos y plaquetas, en estos casos se observa una progresión rápida con un tiempo de supervivencia menor. (<http://www.asociacionalma.org.ar>)

En cuanto a la morfología, los linfocitos de la LLC son de pequeño tamaño y de cromatina madura y condensada de aspecto “grumelée” (apelotonada en varios grumos separados por franjas de cromatina más clara). La relación núcleo-citoplasma es elevada, el contorno nuclear es redondeado y el citoplasma no muestra granulación visible. Los linfocitos que proliferan son anormalmente frágiles, por lo que se rompen con mucha facilidad durante la realización de los extendidos, constituyendo lo que se denominan sombras nucleares de Gümprrecht (smudge cells) que corresponden a un material amorfo con la cromatina nuclear desnuda (Cárdenas Proaño, 2016).

Además, son importantes como factor pronóstico, ya que si se presentan en el frotis en un porcentaje mayor al 30% se considera que la evolución es más favorable con mejor respuesta al tratamiento. (Gogia y col., 2014).

Estadificación

Son de uso común el sistema de Rai (Estados Unidos) y el de Binet (Europa).

La estadificación de LLC ayuda a los médicos a evaluar el avance anticipado de la enfermedad con el tiempo y también a desarrollar un plan de tratamiento.

El sistema de Rai fue diseñado en 1968 y utiliza cinco estadios

- Rai 0:** El paciente solo presenta linfocitosis en la sangre. Sin adenopatías palpables, esplenomegalia o hepatomegalia y con recuentos de glóbulos rojos y plaquetas casi normales.
- Rai I:** Paciente con linfocitosis y adenopatías palpables. El bazo y el hígado no se palpan y los recuentos de glóbulos rojos y plaquetas casi normales.

- Rai II:** Paciente con linfocitosis, esplenomegalia (y posiblemente hepatomegalia), con o sin adenopatías palpables. Los recuentos de glóbulos rojos y de plaquetas casi normales.
- Rai III:** Paciente con linfocitosis y anemia, con o sin adenopatías o esplenomegalia. El recuento de plaquetas es casi normal.
- Rai IV:** Linfocitosis más trombocitopenia con o sin anemia, adenopatías o esplenomegalia.

El sistema de Binet comprende tres estadios clínicos (A, B y C, en orden creciente de riesgo).

- Binet A:** Aumento anormal de la cantidad de linfocitos en la sangre circulante y menos de 3 zonas de tejido linfoide agrandado palpable
- Binet B:** Aumento anormal de la cantidad de linfocitos en la sangre circulante y más de 3 zonas de tejido linfoide agrandado palpable
- Binet C:** Igual que B con anemia (hemoglobina menor 11 g/dL en hombres o hemoglobina menor 10 g/dL en mujeres), o bajos conteos de plaquetas (plaquetas menor a 100.000/ μ L).

Los sistemas de Rai y Binet suelen integrarse para dar lugar a un sistema simplificado de estadificación de riesgo que permite clasificar a los pacientes en tres grupos: bajo riesgo (Rai 0, Binet A), riesgo intermedio (Rai I/II, Binet B) y alto riesgo (Rai III/IV y Binet C)

Esquema	Características	%	Riesgo	
Binet	A	<3 áreas linfoides	60	Bajo
	B	>3 áreas linfoides	30	Intermedio
	C	Anemia o trombocitemia	10	Alto
Rai	0	Linfocitosis únicamente	30	Bajo
	I	Adenopatías	25	Bajo
	II	Hepato-esplenomegalia	25	Intermedio
	III	Anemia	10	Alto
	IV	Trombocitopenia	10	Alto

Se consideran 5 áreas linfoides: cuello, axilas, ingles, hígado y bazo

Imagen 1: Tabla de estadificación Rai/Binet

(Tomado de: <http://www.aeal.es/leucemia-linfocitica-cronica-espana/4-pronostico-en-el-paciente-con-llc/>)

En medicina veterinaria estos sistemas no se utilizan, pero se puede llegar a adaptar modificando los valores de referencia indicados en medicina humana.

En cuanto a la evolución de la LLC en medicina humana se describen 3 formas diferentes:

1. Síndrome de Richter: en un 90% de los casos la LLC progresa a un linfoma agresivo, dentro del cual un pequeño porcentaje se transforma a un linfoma de células grandes B. Las personas con este tipo de LLC pueden tener ganglios linfáticos significativamente agrandados, fiebre y disminución de peso, hepatoesplenomegalia y linfadenopatías asimétricas. El incremento de la LDH cuando supera las 1.500 UI/L sin otra causa que lo justifique es casi patognomónico.
2. Leucemia prolinfocítica: esta enfermedad puede ser del tipo de células B o T, se destaca por una marcada leucocitosis, con anemia y trombocitopenia frecuente, marcada esplenomegalia y prolinfocitos circulantes que se observan como linfocitos de mayor tamaño y nucléolo central prominente con cromatina densa. De peor pronóstico es la de tipo T.
3. Crisis blástica: se ve en menor medida, se caracteriza por linfadenopatía generalizada, esplenomegalia, linfocitosis, anemia y trombocitopenia. La muerte ocurre por falla multiorgánica (Comazzi y col., 2011).

Introducción al medulograma

La médula ósea (MO) es el principal órgano hematopoyético y su evaluación se requiere siempre que exista una anomalía persistente o no explicable en el hemograma.

Los sitios de punción para la obtención de muestras de médula ósea son húmero, fémur (requiere la sedación del paciente y utilización de agujas de punción medular: tipo Jamshidi o Illinois), cresta iliaca y esternón (a diferencia de los anteriores, en estos no es necesaria la sedación total pudiéndose hacer infiltración local con lidocaína).

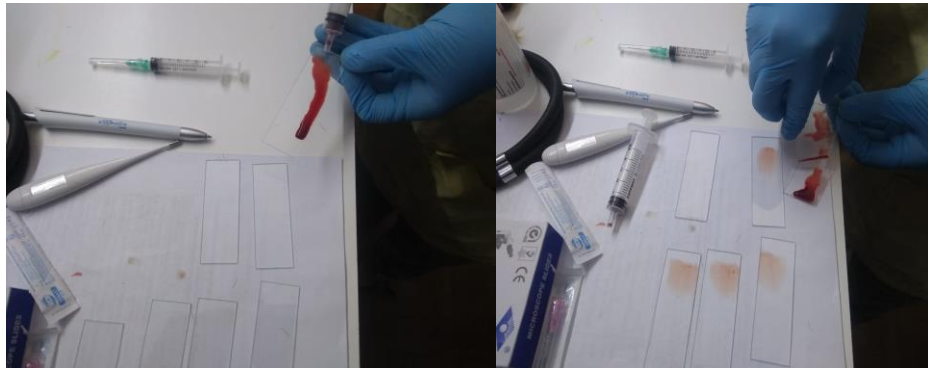
La muestra obtenida de esternón (imagen 2) o cresta iliaca suele aparecer lentamente en la jeringa, si lo hace rápidamente es probable que esté hemodiluida.



Imagen 2: Punción esternal

Es suficiente obtener 1-1,5 ml de aspirado.

Una vez obtenida la muestra se coloca sobre un vidrio de 10 x 10 cm o en su defecto sobre un portaobjeto (imagen 3), dejándose con cierta inclinación para que la muestra deslice sobre el mismo y se toma una alícuota de la muestra con otro portaobjetos desde la superficie (imagen 4). Se hacen extendidos sobre otros portaobjetos y se dejan secar a temperatura ambiente. Una vez secos se tiñen con metanol-Giemsa o May Grümwald-Giemsa.



Imágenes 3 y 4: Extendido del material medular

La observación se hace primeramente a 10X para observar celularidad y megacariocitos, y luego se observa con objetivo de inmersión (100X) (Aceña y col., 1992), para ver citomorfología, determinar la relación mieloide/ eritroide (M/E) a través del conteo de 500 células, siendo la normal 1,5/2, evaluar la sincronía y maduración de las líneas mieloide y eritroide, determinar el % de linfocitos y células plasmáticas (porcentaje normal de linfocitos 13%; células plasmáticas 5%). También pueden observarse agentes etiológicos (*Leishmania spp*). (Wellman, 2004).

Complementariamente se puede determinar el almacenamiento de hierro mediante la tinción con azul de Prusia.

Hipótesis

El medulograma permite arribar a un diagnóstico diferencial entre leucemia linfocítica crónica de acuerdo al grado de infiltración por linfocitos, con un linfoma de grado V que infiltra medula ósea.

Objetivo general

El objetivo del trabajo es hacer un relevamiento de casos clínicos sobre caninos con proceso linfoproliferativos (leucemia linfocítica crónica/linfoma) que asistieron al Hospital Escuela de la Facultad de Ciencias Veterinarias de La Universidad Nacional de La Plata, al Hospital Escuela de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad de Buenos Aires y aquellos derivados al servicio privado por colegas, con el propósito de contribuir al diagnóstico diferencial entre leucemia linfocítica crónica y linfoma mediante punción medular (periodo 2015-2017).

Objetivos particulares

- Relacionar los signos clínicos con los datos obtenidos en el hemograma, punción medular y en las imágenes ecográficas observadas en la leucemia linfocítica crónica y en el linfoma estadio V.
- Establecer, a través del medulograma, el diagnóstico diferencial entre ambas lesiones.

Materiales y métodos

En el presente trabajo se realizó una revisión de 60 historias clínicas de pacientes con enfermedad linfoproliferativa.

Se incluyó a los pacientes que durante ese periodo se les había realizado:

- examen físico general y particular a través de un protocolo de historia clínica.
- métodos complementarios:
 - hemograma, recuento de plaquetas e índice reticulocitario (procesamientos manuales).
 - punción de ganglios y punción de medula ósea, con lectura de ambas.
 - ecografía abdominal.

Para la obtención de la muestra de MO cada paciente fue previamente rasurado y desinfectado en la zona del manubrio del esternón, luego se realizó la infiltración con lidocaína local 1,5-2 ml, por último, se procedió a punzar con una aguja 25/12 y aspirar con jeringa de 5ml.

Las muestras de linfonódulos se tomaron por aspiración con aguja fina (25/8 y jeringa de 5 ml) de distintos linfonódulos superficiales.

Todas las muestras citológicas se tiñeron con tinción de tipo Romanowsky (Giemsa o T15).

Resultados

De los 60 pacientes analizados, en 5 de estos se arribó al diagnóstico de linfoma, los cuales se habían presentado a la consulta con linfadenomegalia y esplenomegalia, pero sin ningún cambio hematológico.

En cuanto a los pacientes con LLC (55/60), se observó que los que tenían un porcentaje de blastos en MO entre el 5 y 10% (12/55), variaban en el número de plaquetas desde 30.000 a 100.000/mm³, sin presentar ningún tipo de sangrado. El valor de hematocrito en estos pacientes variaba entre 11 y 30%.

De los pacientes con mayor infiltración medular de linfocitos maduros (23/55), (tomando como punto de corte más de 50% de linfocitos maduros); solo 13 presentaban esplenomegalia.

La LLC fue mayor en caninos adultos 25/55 (mayores a 10 años), con presentación más frecuente en machos (29/55).

De los datos obtenidos en el hemograma se observó leucocitosis (mayor a 20.000/ul) (29/55) a expensas de linfocitos (con una infiltración medular de linfocitos mayor al 80%), de los cuales solo 13 presentaban blastos.

En los caninos estudiados se observó anemia y trombocitopenia (13/55), y solo trombocitopenia en 17 de los 55 animales.

En los pacientes con leucocitosis (mayor a 70.000/ul) (4/55) se observó anemia, trombocitopenia y linfocitosis, siendo variable la linfadenomegalia y la esplenomegalia.

La esplenomegalia también fue variable cuando se constató linfadenomegalia, y se observó que el 50% de los casos (17/34) con esplenomegalia presentaban leucemia aleucémica (sin evidencia de linfocitos en sangre).

Discusión

En medicina humana la LLC constituye el 0,8 % de todas las neoplasias, y el 25-30% de las leucemias del adulto. Es la leucemia más frecuente en occidente donde predomina la LLC de tipo B, mientras que en países asiáticos es más frecuente el tipo T, que es de peor pronóstico. (Sociedad chilena hematológica: guías prácticas para el tratamiento de las LLC); en medicina veterinaria corresponde al 10% de las neoplasias hematopoyéticas presentes en caninos.

De acuerdo a lo publicado en medicina humana (cita) la LLC afecta más a varones que a mujeres y varía su presentación de acuerdo a la zona geográfica, habiéndose observado en el presente trabajo que no existe diferencia entre razas, pero si se observó mayor frecuencia en machos.

La etiología de la LLC es desconocida, tanto en medicina humana como en veterinaria. No se ha relacionado con virus ni con radiaciones ionizantes, aunque la prevalencia es mayor en individuos en contacto con algunos herbicidas (agente naranja) y existiendo además un fuerte componente genético (Moraleda Jiménez, JM, 2017).

Desde el punto de vista de la cinética celular, la LLC es una enfermedad más acumulativa que proliferativa, lo que explica gran parte de sus manifestaciones clínicas. En la LLC, los linfocitos neoplásicos se acumulan progresivamente porque tienen una vida media más larga que los normales, por lo que hace que su curso clínico sea lento e insidioso. Muchas veces es un hallazgo accidental en un hemograma de rutina, otras veces la persona presenta ligera adenopatía, debilidad, pérdida de peso, por lo que la aparición de los signos y síntomas de la enfermedad guarda una estrecha relación con la infiltración de los tejidos linfoides y de la médula ósea, y con las alteraciones de la inmunidad. La linfadenopatía es asimétrica, no dolorosa y la esplenomegalia se observa en el estadio final de la enfermedad (Moraleda Jiménez JM, 2017).

Dichos datos se correlacionan con los observados en el presente trabajo.

La disregulación del sistema inmune asociada a la LLC se manifiesta por un déficit de producción de Ig normales y por el desarrollo de autoanticuerpos. Ello explica la anemia hemolítica autoinmune (observada en el 10-25 % de los pacientes) y la trombocitopenia inmune (en el 1-2 % de los casos) que, en caso de producirse en forma conjunta, se conocen como síndrome de Evans siendo estos de difícil control y con peor pronóstico. En este trabajo, los caninos con LLC presentaban con mayor frecuencia trombocitopenia sola que la descrita en la bibliografía (síndrome de Evans).

Por otra parte, y en cierta forma, paradójicamente a la producción de autoanticuerpos, los pacientes con LLC presentan hipogammaglobulinemia a medida que progresa la enfermedad, lo que provoca infecciones bacterianas recurrentes, constituyendo una de las principales causas de morbi-mortalidad en los enfermos. (Giordano, 2000). En el presente trabajo esta variable no fue analizada.

En cuanto al pronóstico se siguen utilizando los sistemas de Rai/Binet basados en hallazgos de laboratorio y síntomas clínicos. En la actualidad se comenzaron a usar técnicas como la citometría de flujo, donde se utilizan 3 marcadores importantes como son el CD38, Zap 70 y CD 49, definiéndose de este modo el tipo de linfocito presente.

La citogenética y la técnica de PCR permiten ver las translocaciones (trisomías y deleciones) las cuales son importantes como factor pronóstico y su posible evolución a síndrome de Ritche (Moreno, 2018).

En medicina veterinaria en Argentina no se utilizan estas tecnologías por un tema de costos, siendo las mismas utilizadas de rutina en otros países (Estados Unidos), permitiendo un mejor estudio de las leucemias, demostrando que la utilización de las mismas permite la instauración del tratamiento adecuado, así como también la diferenciación de LLC de los linfomas con infiltración medular.

En medicina humana se ha visto que los pacientes que padecen LLC pueden presentar la aparición de otro tipo de neoplasia no hematopoyética, no siendo frecuente esta observación en medicina veterinaria.

Conclusiones

Lo que se observó en este trabajo es que muchos de los casos diagnosticados como leucemia por infiltración de médula ósea no presentaban linfocitosis.

En este estudio solo se utilizó la punción de medula ósea y el análisis de la misma como método de diagnóstico, sería importante implementar como nuevas herramientas el esquema de clasificación de Rai/Binet y el conteo de las sombras de Gümprrecht utilizándolas como factor pronóstico y permitir el establecimiento de puntos de cortes en medicina veterinaria.

También el empleo de la citogenética a fin de ver translocaciones contribuiría a predecir el pronóstico de los pacientes.

El uso de la citometría de flujo permitiría distinguir que tipo de linfocito predomina en la LLC, pudiendo ver el tiempo de evolución y definir el tratamiento a emplear; también ayudaría a distinguir los linfomas que en medicina humana están descritos con infiltración de médula ósea similar a una LLC.

En el mismo sentido, se podría evaluar la utilidad del proteinograma (por la hipogammaglobulinemia observada en medicina humana) y la medición de LDH como diagnóstico y factor pronóstico.

Bibliografía

Aceña MC, Liste E, Gascón EM. Biopsia de médula ósea en perro: técnica y utilidad diagnóstica. *Clínica veterinaria de pequeños animales*. 1992; 12 (2).

Aniołek O, Gajewski Z, Giziński S. Application of flow cytometry in diagnosing Lymphomas in dogs and cats. *Central European Journal of Immunology* 2014; 39 (3).

Arias-Segura J, Valero-González J. Leucemia linfocítica crónica. Artículo de revisión. *Lux médica*. 2013 Año 8 número 25.

Avery A, Avery P. Determining the Significance of Persistent Lymphocytosis. *Vet Clin Small Anim*. 2007; 37: 267–282.

Bezares R, Ledesma I, Solessi M, Frigeri E, Diaz A, Pantano J, Cambiazzo S, Giordano M, Gamberale R, Servidio M, Iparragirre M, Calcagno M y Fideleff H. Análisis del valor de la vitamina D como factor pronóstico en Leucemia Linfática crónica. Posible implicancia terapéutica *Hematología*. 2012; 16 (2): 79-85.

Bromberek J, Rout E, Agnew M, Yoshimoto. J, Morley P and Avery. A Breed Distribution and Clinical Characteristics of B Cell Chronic Lymphocytic Leukemia in Dogs. *J Vet Intern Med* 2016; 30:215–222.

Burkhard m, and Bienzle d. Making sense of lymphoma diagnostics in small animal patients veterinary clinics of north america *small animal practice*. 2013: 1332-1347.

Cárdenas Proaño HR. Evaluación de las causas relacionadas con la presencia de sombras de Gumprecht en frotis de sangre periférica, en pacientes del Hospital de Especialidades de las Fuerzas Armadas. Tesis doctoral. Universidad Central Del Ecuador Facultad De Ciencias Médicas. 2016.

Campo E, Swerdlow S, Harris N, Pileri S, Stein H, and Jaffe E. The 2008 WHO classification of lymphoid neoplasms and beyond: evolving concepts and practical applications. *Blood*. 2011; 117(19): 5019-5032.

Carrillo Rivera Jorge A., Gil Romero M. Gabriela, García Santos M. Elena: Chronic lymphocytic leukemia / Small cel lymphocytic lymphoma b. *Revista mexicana de estomatología*. 2014;1(1):1-8.

Comazzi S, Gelain M.E, Martini V, Riondato F, Miniscalco B, Marconato L, Stefanello D, and Mortarino M. Immunophenotype Predicts Survival Time in Dogs with Chronic Lymphocytic Leukemia. *J Vet Intern Med*. 2011; 25: 100–106.

Comazzi S, Aresu L and Marconato L. Transformation of canine lymphoma/leukemia to more aggressive diseases: anecdotes or reality?. *Veterinary Science*. 2015; 2 (42):1-6.

Couto G <https://www.columbia.edu.py/institucional/investigacion/articulos-de-investigacion/898-leucemia-canina-un-enemigo-silencioso-que-deberiamos-conocer>, 2015

De La Serna Torroba. Leucemia linfocítica crónica guía para pacientes y familiares. AEAL, Asociación Española de Afectados por Linfoma, Mieloma y Leucemia 2015. Pag 1-121.

Dobson j, Villiers e and Morris j. Diagnosis and management of leukaemia in dogs and cats. *In practice*. 2006; 28: 22-31

Dupont, J. La buena sombra: la complejidad o no de los factores pronósticos en la leucemia linfática crónica. *Sociedad argentina de hematología leucemia linfática crónica* <http://www.sietediasmedicos.com/literatura-medica/hematologia>

Eichhorst B, Robak T, Montserrat E, Ghia P, Hillmen P, Hallek M & Buske C. Chronic lymphocytic leukaemia: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology*. 2015; 26 (Supplement 5): 78–84

Gamberale R. Leukemia and lymphoma society, 2012, página 20 | 800.955.4572 | www.LLS.org

Giordano M, Simposio internacional Nuevas perspectivas en oncología
Academia nacional de medicina 2000; 60 (supl. II): 12-16

Gogia A, Raina V, Gupta R, Gajendra S, Kumar L, Sharma A, et al. Prognostic and predictive significance of smudge cell percentage on routine blood smear in chronic lymphocytic leukemia. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*. 2014

Grecco, Pose Carbaco. Guías de Diagnóstico y Tratamiento 2017. *Sociedad Argentina de Hematología*, pag 423-428.

Hamblin T. Prognostic markers in chronic lymphocytic leukaemia. *Best Practice & Research Clinical Haematology*. 2007; 20 (3): 455–468.

Hernández Ramírez P. Leucemia linfocítica crónica aspectos clínicos y biológicos. *Rev cubana hematol inmunol hemoter*. 1999; 15(1):7-20.

Leyto Cruz F. Leucemia mieloide aguda. *Rev Hematol Mex*. 2018 ;19(1):24-40.

Martínez Altarriba M, López Grau M, Gallardo C. Intentando mejorar el pronóstico y la supervivencia del mieloma y la leucemia linfóide crónica. Medicina general. 2002; 43: 247-251.

Merino A, Brugués R, García R, Kinder M, Torres F y Escolar G. Estudio comparativo de la morfología de sangre periférica analizada mediante el microscopio y el CellaVision DM96 en enfermedades hematológicas y no hematológicas. Rev Lab Clin. 2011; 4(1):3-14.

Merino. Diagnóstico diferencial de las células linfoides atípicas en sangre periférica. Ed Cont Lab Clin. 2013;16(20): 2012-2013.

Meza León A. Leucemias en animales domésticos y marcadores de inmunofenotipo. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia - Universidad Nacional Autónoma de México, 2012.

Moraleta Jiménez JM. Pregrado de Hematología. 4ª edición. 2017, Sociedad Española de Hematología y Hematoterapia, pag 335-363.

Moreno C, Montserrat E. New prognostic markers in chronic lymphocytic leukemia. Blood Reviews. 2008; 22: 211–219.

Nowakowski, G, Hoyer, J, Shanafelt T, Zent, C, Call, N, Bone T, LaPlant B, Dewald, G, Tschumper R, Jelinek, D, Witzig, T and Kay N. Percentage of Smudge Cells on Routine Blood Smear Predicts Survival in Chronic Lymphocytic Leukemia. J Clin Oncol. 2009; 27:1844-1849.

Perpiñán D, Costa T, Choi W, Caponetti G, Brodersen W, Armstrong D. Clinical and pathologic characteristics of T-cell lymphoma with a leukemic phase in a raccoon dog (*Nyctereutes procyonoides*). Journal of Veterinary Diagnostic Investigation. 2011; 23(4) 817–820.

Porfirio Hernández Ramírez. Leucemia Linfóide Crónica. Aspectos Clínicos Y Biológicos. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter. 1999; 15(1):7-20.

Ruiz De Gaona E, Rifón J, Pérez-Calvo J, Bendandi M, Iglesias R, Panizo C. La anemia en la leucemia linfática crónica: ¿es la eritropoyetina la solución del problema? Rev Med Univ Navarra. 2007; 51 (1): 03-10.

Sánchez Visconti, G., Hervás Rodríguez, J. y Chacón-M Lara, F. Diagnóstico precoz de leucemias. Centro veterinario. 2013, 57.

Sant'AnaDusseL ; Silva T; Gonçalves Freitas L; Mello Vieira L; Sabino A Carvalho M Gumprecht shadows: when to use this terminology?. J Bras Patol Med Lab. 2013; 49 (5): 320-323.

Seelig Dv, Avery A C, Ehrhart E. J , Linden M A. The Comparative Diagnostic Features of Canine and Human Lymphoma. Vet. Sci. 2016, 3 (11): 1-29.

SicrasMainar A, Castro A , Navarro Artieda R. Características clínicas y respuesta al tratamiento de pacientes adultos con leucemia linfática crónica (LLC) y linfoma no Hodgkin (LNH). Gaceta Médica Mexicana. 2016; 152: 59-69.

Stacy N and Harvey J. Bone Marrow Aspirate Evaluation. Vet Clin Small Anim. 2017; 47: 31–52.

Thalheim I, Williams I, Borst I, Fogle I, and Suter s. Lymphoma immunophenotype of dogs determined by immunohistochemistry, flow cytometry, and polymerase chain reaction for antigen receptor rearrangements. J vet intern med 2013;27: 1509–1516.

Thangapandiyan M, and BalachandranC. Cytological evaluation of canine lymphadenopathies - a review of 109 cases. Vet. Arhiv. 2010; 80 (4): 499-508.

Tan E, Abrams-ogg a, Defarges A and Bienzle D. Automated analysis of bone marrow aspirates from dogs with haematological disorders. J. comp. path. 2014;1-13.

Valli V, San Myint M, Barthel A , Bienzi D, Caswell J, Colbatzky F, Durham A, Ehrhart Johnson E, Jones, Kiupel M, Labelle P, Lester S, Miller M, Moore P , Moroff S, Roccabianca P, Ramos-Vara J, Ross A, Scase T, Tvedten H, and VernauW. Classification of canine malignant lymphomas according to the world health organization criteria. Veterinary Pathology. 2011; 48(1): 198-211.

Wellman M. A practical guide to leukemia in dogs and cats. [https:// www.idexx.eu](https://www.idexx.eu). 2015.

Wellman M L. Radin M. J. Bone Marrow Evaluation in Dogs and Cats. Nestle Purina, Clinical Handbook Series. 2004:1-101.

Williams MJ, Avery AC, Lana SE, Hillers KR, BachandAM , and Avery PR Canine Lymphoproliferative Disease Characterized by Lymphocytosis: Immunophenotypic Markers of Prognosis. J Vet Intern Med. 2008; 22:596–601.

www.sietediasmedicos.com: la Buena sombra la complejidad o no de los factores pronosticos de las leukemia linfociticas cronicas

