



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

Elaboración de protocolos de evaluación histopatológica de mastocitoma y sarcomas de tejidos blandos en caninos

Sazi Alberto Camacho Vargas

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia
Bogotá, Colombia

2023

Elaboración de protocolos de evaluación histopatológica de mastocitoma y sarcomas de tejidos blandos en caninos

Sazi Alberto Camacho Vargas

Trabajo de investigación presentado como requisito parcial para optar al título de:
Especialista en Anatomopatología Veterinaria

Director (a):

(M.V., MSc, PhD) Lucía Botero Espinosa

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia
Bogotá, Colombia

2023

(Dedicatoria)

A mi madre y hermano quienes me brindaron apoyo incondicional durante todo momento; al laboratorio de patología veterinaria de la Universidad Nacional que, junto a sus profesionales y mis compañeros, me ayudaron en cada paso de mi formación académica.

Agradecimientos

A la Doctora Lucia Botero Espinoza. Directora del trabajo.

Al Laboratorio de Patología Veterinaria.

Resumen

Elaboración de protocolos de evaluación histopatológica de mastocitoma y sarcomas de tejidos blandos en caninos

En estudios de oncología humana se han realizado diversos estudios que enfocados en reducir la variación entre patólogos en estudios interobservadores al momento de evaluar neoplasias, para reducir la subjetividad y generar resultados que logren ser reproducidos en diferentes estudios y correlacionarse con la clínica del paciente; sin embargo, en medicina veterinaria, son pocos los estudios que proponen protocolos para la evaluación de neoplasias, que puedan relacionarse con el pronóstico de los pacientes. Entre estos tumores se encuentran el Mastocitoma canino, así como el sarcoma de tejidos blandos. Este trabajo tiene como objetivo proponer protocolos de evaluación para aportar a la estandarización macroscópica y microscópica de evaluación de tumores en caninos, realizando una revisión de literatura sobre las diferentes técnicas de corte macroscópico de tejidos de masas cutáneas y subcutáneas, así como de mastocitoma canino cutáneo y subcutáneo, y de sarcoma de tejidos blandos; entre los diferentes aspectos evaluados, se encuentran características morfológicas las cuales se evalúan por tinción de rutina de hematoxilina-eosina, y algunas características son evaluadas por medio de tinciones inmunohistoquímicas con fines tanto diagnósticos (principalmente para sarcomas de tejidos blandos), como pronósticos. Posteriormente se realiza una propuesta de protocolos basados en la revisión de literatura, para cortes macroscópicos de masas cutáneas y subcutáneas, evaluación diagnóstica y pronóstica de Mastocitoma cutáneo, y evaluación diagnóstica de sarcomas de tejidos blandos en caninos.

Palabras clave: Neoplasia, Tumor, Mastocitoma canino, Sarcoma de tejidos blandos.

Abstract

Development of histopathological evaluation protocols for mast cell tumors and soft tissue sarcomas in canines.

In human oncology studies, various studies have been carried out that focus on reducing the variation between pathologists in interobserver studies when evaluating neoplasms, to reduce subjectivity and generate results that can be reproduced in different studies and correlated with the patient's clinical features; However, in veterinary medicine, there are few studies that propose protocols for the evaluation of neoplasms that can be related to the prognosis of patients. These tumors include canine mast cell tumors, as well as soft tissue sarcoma. This work aims to propose evaluation protocols to contribute to the macroscopic and microscopic standardization of tumor evaluation in canines, conducting a literature review on the different techniques for gross trimming of cutaneous and subcutaneous tumors, as well as cutaneous canine mast cell tumors. and subcutaneous, and soft tissue sarcoma; Among the different aspects evaluated, there are morphological characteristics which are evaluated by routine hematoxylin-eosin staining, and some characteristics are evaluated by means of immunohistochemical stains for both diagnostic (mainly for soft tissue sarcomas) and prognostic purposes. Subsequently, a protocol proposal is made based on the literature review, for gross trimming cutaneous and subcutaneous tumors, diagnostic and prognostic evaluation of cutaneous mast cell tumors, and diagnostic evaluation of soft tissue sarcomas in canines.

Keywords: Neoplasm, tumor, mast cell tumor, soft tissue sarcoma.

Contenido

	Pág.
Resumen	VII
Lista de figuras.....	X
Lista de tablas	XI
Lista de abreviaturas.....	XII
Introducción	1
1. Evaluación macroscópica y corte de masas cutáneas.....	3
2. Protocolo de evaluación de mastocitoma cutáneo y subcutáneo en caninos.....	9
2.1 Marcadores pronósticos en mastocitoma:	13
3. Protocolo evaluación de sarcoma de tejidos blandos cutáneo y subcutáneo en caninos	15
A. Anexo: Propuesta protocolo corte macroscópico de masas cutáneas.....	25
B. Anexo: Propuesta protocolo evaluación de mastocitoma cutáneo y subcutáneo en caninos	27
C. Anexo: Propuesta protocolo evaluación de sarcoma de tejidos blandos cutáneo y subcutáneo en caninos	31
Bibliografía	35

Lista de figuras

	Pág.
Figura 1-1: Esquema representativo de tejidos remitidos.....	5
Figura 1-2: Esquema ilustrativo corte perpendicular.....	5
Figura 1-3: Esquema ilustrativo de corte perpendicular en intervalos regulares.....	5
Figura 1-4: Esquema ilustrativo de corte perpendicular radial en cruz.....	6
Figura 1-5: Esquema ilustrativo del corte para evaluar márgenes en paralelo.....	6
Figura 2-1: Diagrama de flujo para la interpretación de mastocitoma cutáneo y subcutáneo.....	13
Figura 3-1: Patrón fasciculado.....	16
Figura 3-2: Patrón de espina de pescado en un fibrosarcoma en un canino.....	16
Figura 3-3: Patrón estoriforme en un tumor de la vaina del nervio periférico en un canino.....	17
Figura 3-4: Patrón arremolinado.....	18
Figura 3-5: Patrón de empalizada nuclear.....	19
Figura 3-6: Marcación citoplasmática positiva en tumores en caninos.....	23
Figura 3-7: Diagrama de flujo para la interpretación de sarcomas de tejidos blandos.....	24

Lista de tablas

	Pág.
Tabla 2-1: Características propias del mastocitoma canino.	10
Tabla 2-2: Grados de mastocitoma cutáneo en el sistema de Patnaik, et al; 1984.....	12
Tabla 3-1: Patrones comunes en sarcomas de tejidos blandos.	20
Tabla 3-2: Marcadores de inmunohistoquímica con sarcomas de tejidos blandos.	22

Lista de abreviaturas

Abreviaturas

Abreviatura	Término
<i>H&E</i>	Hematoxilina-eosina
<i>IHQ</i>	Inmunohistoquímica
<i>HPF</i>	Campo de alto poder

Introducción

En estudios oncológicos de medicina humana existe una crisis en cuanto a la capacidad de reproducir estudios relacionados sobre evaluación de neoplasias; crisis que es aún mayor en medicina veterinaria, y esto se debe en gran medida a las inadecuadas descripciones en las metodologías realizadas en los estudios¹⁰. Los intentos para realizar estudios con esquemas de graduación en oncología veterinaria son casi inexistentes¹⁰. Los estudios en oncología humana se han enfocado en reducir la variación entre patólogos en estudios de interobservadores al momento de evaluar diferentes neoplasias, reduciendo así la subjetividad y generando resultados que logren ser reproducidos en diferentes estudios y a su vez que puedan ser correlacionados con la clínica del paciente para la evaluación pronóstica y el enfoque del tratamiento a realizar. Estos estudios han permitido en oncología humana, el desarrollo de diferentes protocolos que ayudan a la evaluación, estadificación y diagnóstico de diferentes neoplasias, lo cual reduce la subjetividad y facilita la graduación de los tumores¹⁰.

En medicina veterinaria a pesar de que se han desarrollado algunos protocolos y/o métodos de graduación de diferentes tipos de tumores a partir de diferentes criterios como lo son el índice mitótico, grados de atipia o diferenciación, cantidad de necrosis, pleomorfismo nuclear, evaluación inmunohistoquímica (IHQ), entre otros^{1, 2, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 11, 12, 13}; no existen protocolos similares a los generados en oncología humana lo cual representa un mayor riesgo de subjetividad a la hora de evaluar determinados tumores, por lo que la evaluación está sujeta al criterio individual del examinador, lo que representa un mayor riesgo de variabilidad en los resultados¹⁰.

A pesar de esto, en los últimos 40 años se han logrado un número importante de avances en oncología veterinaria, encontrando diferentes criterios que permiten la graduación de diferentes neoplasias a partir de diferentes criterios que se han relacionado directamente con el pronóstico de los pacientes a partir de diferentes estudios que actualmente se han considerado estándar en la evaluación de neoplasias^{2, 10}. Algunos ejemplos incluyen tumores de células redondas como el mastocitoma canino el cual puede ser graduado por evaluación histopatológica con tinción de rutina hematoxilina-eosina (H&E), y evaluada por

medio de IHQ con fines pronósticos^{3, 9, 11, 12, 13}; y los sarcomas de tejidos blandos que abarca un grupo de neoplasias de origen mesenquimal, en su mayoría de células fusiformes los cuales tienden a ser curativos luego de la escisión quirúrgica con bajas tasas de recurrencia que varían del 7 al 30% y tienen una baja tasa de mitosis (17% de los casos); sin embargo, para los casos en que el comportamiento biológico es más agresivo, se requiere de una buena información pronóstica con el objetivo de direccionar las aproximaciones terapéuticas en el paciente, para ellos es requerido una mayor aproximación diagnóstica del tumor para determinar el origen celular de la neoplasia, encaminando el pronóstico y tratamiento a realizar en el paciente^{1, 4, 6, 7}.

El objetivo de este trabajo es proponer protocolos para aportar en la estandarización macroscópica y microscópica de tumores, haciendo énfasis en mastocitoma canino y sarcoma de tejidos blandos. Estos protocolos se realizaron con la ayuda de diversas fuentes bibliográficas, y tienen como fin poner en acuerdo a los patólogos y estudiantes de patología de la Especialidad en Anatomopatología en el diagnóstico de estas neoplasias. Esperamos que sirvan de guía.

1. Evaluación macroscópica y corte de masas cutáneas

El corte macroscópico de muestras de patología debe permitir una interpretación óptima para el patólogo, por eso es indispensable que además de una comunicación directa con el clínico remitente, y un envío completo de historia clínica de su parte, el patólogo haga un examen completo macroscópico que debe tener los siguientes componentes⁸:

- Dimensiones en centímetros de la masa. Medir y registrar las tres dimensiones de la masa e indicar específicamente la profundidad.
- Crecimiento y ubicación de la masa:
 - a. En la piel (exofítica o sobresaliente)
 - b. Bajo la piel /tejido subcutáneo
- Apariencia
 - a. Nodular
 - b. Papilar
 - c. Quística
 - d. Otras características
- Color
- Consistencia
 - a. Dura
 - b. Firme
 - c. Blanda
- Descripción macroscópica de la epidermis:
 - a. Presencia de erosiones
 - b. Presencia de úlceras
 - c. Otras lesiones
- Registro de la distancia de la lesión con los márgenes del tejido remitido.

- Registro de los bordes y márgenes del tejido enviado para su evaluación histológica.

Para esta última evaluación se pueden utilizar diversas metodologías teniendo como base el tejido remitido (Figura 1-1) el cual va a ser sometido a un corte macroscópico luego de su examinación, y dichos tejidos (tanto tejido de la lesión como de los márgenes a evaluar), pasarán a ser procesados por histotecnica para la elaboración de láminas histológicas. Para ello, deben ser marcados y diferenciados los tejidos correspondientes a los bordes o márgenes del tejido remitido, de manera que se permita su identificación en las láminas histológicas⁸. Algunas de las técnicas para corte macroscópico para la evaluación de márgenes son:

- **Cortes perpendiculares:** Se realiza un corte perpendicular al eje corto del tejido (Figura 1-2), sin embargo, para tener un mayor porcentaje de márgenes evaluados, esta técnica se puede modificar de las siguientes maneras:
 - Cortes en intervalos regulares (seccionamiento seriado o como “pan tajado”): se realizan diferentes cortes paralelos aumentando el porcentaje de márgenes evaluados (Figura 1-3). Una desventaja es el costo por el mayor número de tejidos⁸.
 - Corte radial o en cruz: aplicable a masas de tamaño pequeño o mediano. En esta técnica se realiza un corte sobre el eje corto de la masa, luego, de las dos mitades restantes, se cortan sobre su eje largo generando cuartos de sección (Figura 1-4). Las desventajas de este método son que se asume un crecimiento expansivo de la masa, y la limitada porción de bordes a evaluar⁸.

Figura 1-1: Esquema representativo de tejidos remitidos.

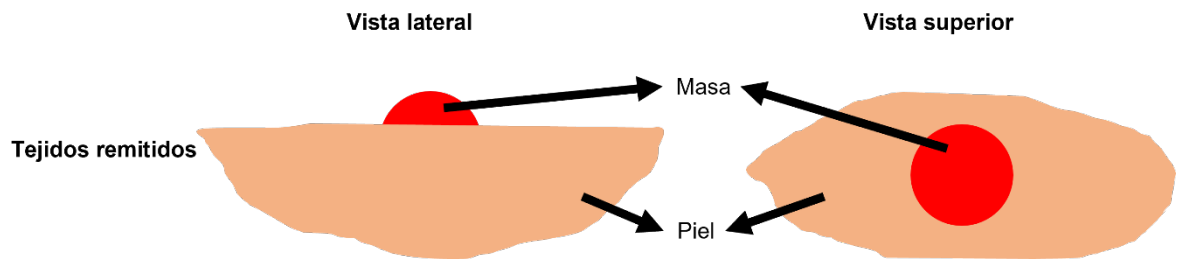


Figura 1-2: Esquema ilustrativo corte perpendicular.

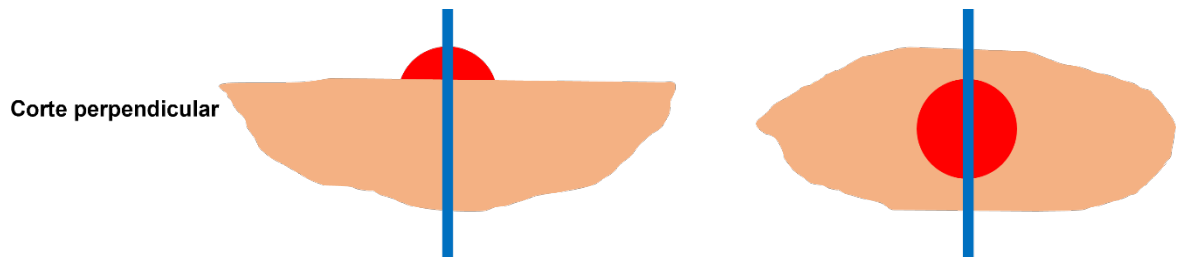


Figura 1-3: Esquema ilustrativo de corte perpendicular en intervalos regulares.

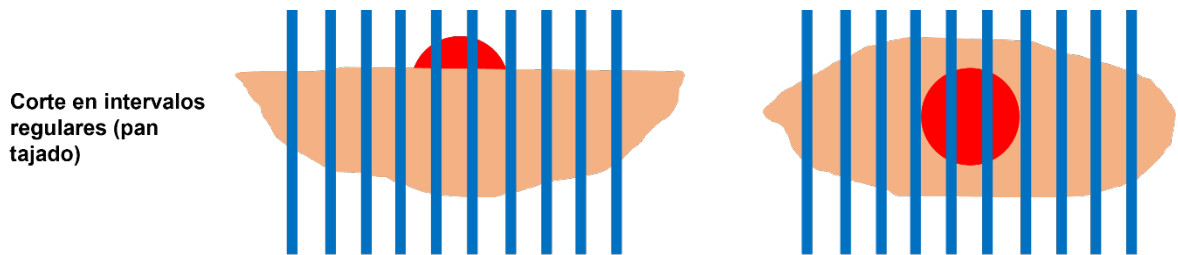
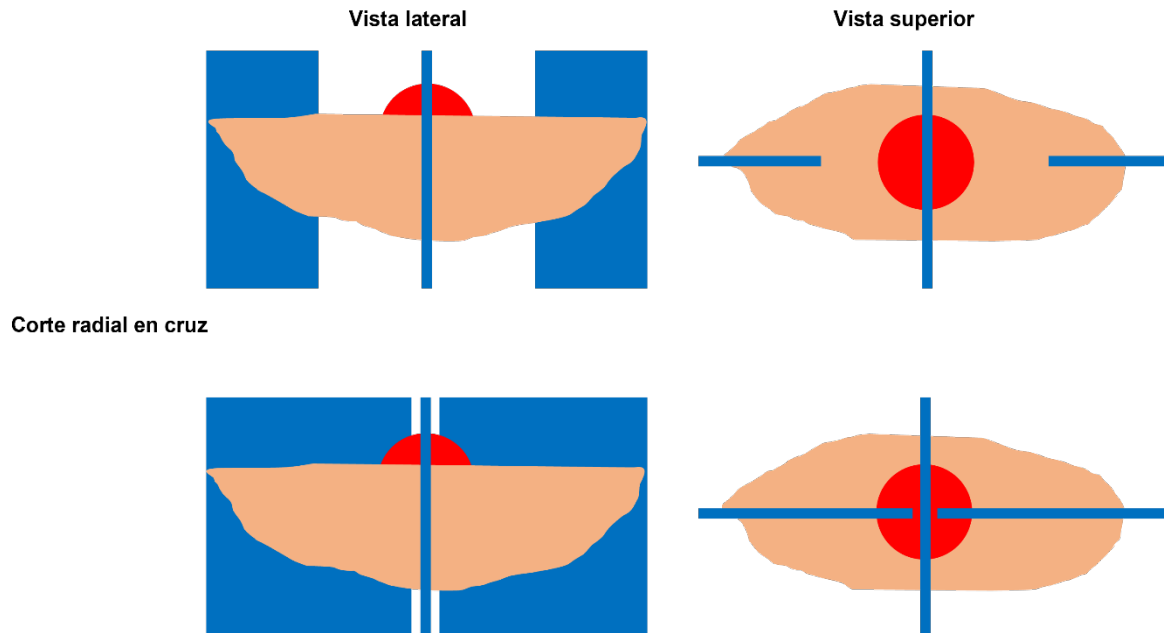
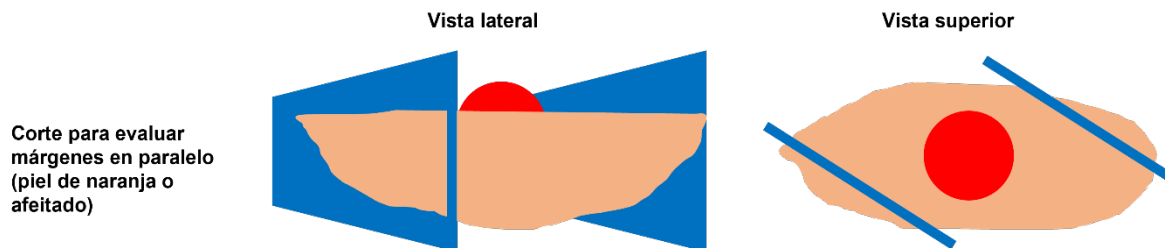


Figura 1-4: Esquema ilustrativo de corte perpendicular radial en cruz.



- **Cortes para evaluar márgenes en paralelo** (también llamados tangenciales, “piel de naranja” o “afeitado”). Se realizan cortes paralelos a la sección de los planos quirúrgicos (Figura 1-5), su principal ventaja es la gran cantidad de porcentaje de margen evaluado. Las desventajas de este tipo de evaluación es que se pierde la relación entre el tumor y el margen del tejido, por lo que no puede ser medido⁸.

Figura 1-5: Esquema ilustrativo del corte para evaluar márgenes en paralelo.



Para la evaluación de los márgenes, estos deben ser correctamente identificados en la lámina, para ello, lo ideal es reportar la técnica realizada en el corte del tejido, y de los bordes del tejido deben ser teñidos de la siguiente manera:

- En caso de que los bordes no hayan sido referenciados, teñir todos los bordes incluyendo del profundo de un solo color.

- Si el tejido posee los bordes referenciados, identificarlos y teñir bordes periféricos y profundos, cada uno de un color diferente, anotando en la remisión a que borde corresponde cada color.

2. Protocolo de evaluación de mastocitoma cutáneo y subcutáneo en caninos

Primero realizar distinción de tumores cutáneos de subcutáneos ya que poseen comportamientos biológicos diferentes; se consideran como mastocitomas cutáneos si las células se encuentran en dermis superficial o epidermis, mientras que se considera subcutánea si las células se encuentran rodeadas de tejido adiposo o si la mayoría de las células tumorales se encuentran en tejido subcutáneo con escasas células sobre dermis profunda^{11, 12}.

Una vez se realiza la distinción de tumores cutáneos de subcutáneos, se determina la apariencia histológica de la neoplasia según las siguientes características:

Tabla 2-1: Características propias del mastocitoma canino.

CARACTERÍSTICA	DESCRIPCIÓN
Crecimiento	Expansivo (más común en tumores de bajo grado) o invasivo (más frecuente en tumores de alto grado)
Delimitación	Puede estar bien delimitada (tumores de crecimiento expansivo) a pobremente delimitadas en masas con crecimiento infiltrativo
Capsula	Usualmente no está presente
Localización	Puede afectar dermis superficial, profunda, ocasionalmente epidermis, e hipodermis (tener en cuenta distinción de masas cutáneas de subcutáneas)
Densidad celular	Puede ser pobremente celular (células esparcidas) a densamente celular
Patrón de organización	En cordones o filas
Estroma	Usualmente sobre estroma colagenoso, posiblemente con edema y colagenolisis
Morfología celular	Redondas a poligonales
Bordes celulares	Distinguibiles
Citoplasma	Citoplasma eosinofílico pálido con moderados a abundantes gránulos basofílicos intracitoplasmáticos tenues
Núcleo	Central, redondo a indentado, pueden encontrarse células multinucleadas
Inflamación	Usualmente con presencia de eosinófilos, pueden encontrarse linfocitos

Estas características favorecen un adecuado diagnóstico de Mastocitoma, sin embargo, se debe tener en cuenta que tumores de alto grado pueden ser difíciles de diagnosticar^{9, 11, 12}.

Evaluación de márgenes:

Para la evaluación de márgenes se recomienda realizar cortes tangenciales de los bordes marcando cada uno, evaluar y reportarlo individualmente¹⁰.

Graduación histológica:

Para el mastocitoma cutáneo canino, existen dos clasificaciones frecuentemente usadas para la graduación histológica; el sistema de Patnaik (1984) y el de Kiupel (2011). En

general se recomienda usar y reportar las dos clasificaciones, dado que algunos clínicos y oncólogos tienen preferencias de una clasificación sobre la otra.

Clasificación de Patnaik: Esta clasificación se basa en algunas características relacionadas al crecimiento y ubicación de las células neoplásicas, así como en su morfología celular¹¹. En la tabla 2 se resumen las características para la graduación de los tumores en este sistema.

Clasificación de Kiupel: En este sistema de clasificación de Kiupel (2011), donde se clasifican como alto o bajo grado; los criterios para considerar como de alto grado son los siguientes:

- Al menos 7 figuras mitóticas en 10 HPF
- Al menos 3 células multinucleadas (3 o más núcleos) en 10 HPF
- Al menos 3 núcleos bizarros en 10 HPF
- Cariomegalia en al menos 10% de las células

Mientras que los tumores que no presenten estas características son considerados como de bajo grado de malignidad. Se debe tener en cuenta que estas clasificaciones se aplican para masas cutáneas, por lo que los Mastocitoma subcutáneos no se deben graduar con dichas clasificaciones⁹.

Para masas subcutáneas se pueden tener en cuenta los siguientes criterios para sugerir el curso de la enfermedad:

- >4 mitosis en 10 HPF
- Multinucleación (al menos 1 en 10 HPF)
- Carencia de gránulos intracitoplasmáticos,
- Crecimiento infiltrativo
- Edad avanzada al momento del diagnóstico

Las masas que cumplan con estas características se consideran que tienen peor pronóstico¹⁰.

En tumores que se consideren sospechosos de diagnóstico de mastocitoma que no puedan ser diagnosticados fácilmente por histopatología, tanto para masas cutáneas como subcutáneas, se puede realizar histoquímica con tinción de Giemsa o azul de toluidina, y tinciones inmunohistoquímicas como CD117 (c-Kit)^{3, 13}.

Tabla 2-2: Grados de mastocitoma cutáneo en el sistema de Patnaik, et al; 1984.

	GRADO I	GRADO II	GRADO III
Localización	Dermis y espacio interfolicular	Células en dermis profunda y pueden llegar hasta musculo esquelético	Células se observan en espacio subcutáneo y tejidos profundos
Morfología celular	Células redondas, monomórficas de citoplasma amplio y con gránulos metacromáticos	Células redondas, con pleomorfismo moderado, algunas células con gránulos finos, y algunas con citoplasma amplio y gránulos hipercromáticos	Pleomorfismo severo, gránulos poco evidentes, células anaplasicas, abundantes células multinucleadas
Morfología nuclear	Redondos con cromatina condensada	Redondos a indentados, con nucleolo evidente, posiblemente con células binucleadas	Núcleos redondos, indentados o irregulares, con 1 o más nucleolos, núcleos
Arquitectura, celularidad, reacción estromal	Células organizadas en arcos o pequeños grupos con fibras de colágeno maduro	Mayor celularidad, posible hialinización	Células organizadas en paquetes, estroma fibrovascular o áreas de hialinización
Figuras mitóticas	Sin mitosis o escasas	Raras, 0 a 2 por HPF	Comunes, 3 a 6 por HPF y mitosis aberrantes frecuentes
Edema y necrosis	Mínima	Escasas áreas	Común

3. Protocolo evaluación de sarcoma de tejidos blandos cutáneo y subcutáneo en caninos

Este es un grupo de neoplasias que poseen un comportamiento biológico y pronóstico similar en caninos, sin embargo, este término aplica mejor para tumores cutáneos, ya que algunos tumores dentro de este grupo, que pueden aparecer en otras localizaciones, muestran un pronóstico más bajo que con su presentación cutánea o subcutánea⁶. Por lo anterior, este término aplica para los siguientes tumores:

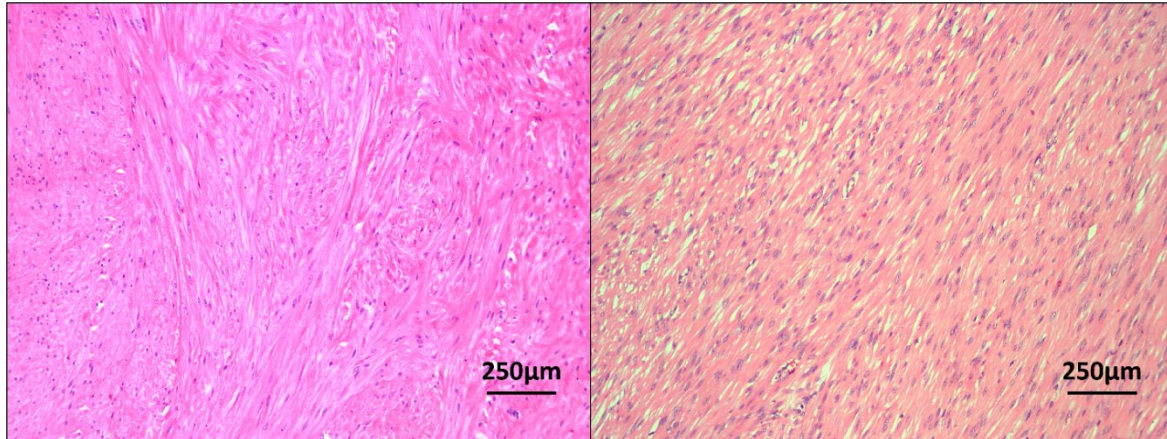
- Fibrosarcoma
- Fibrosarcoma queloidal
- Mixosarcoma
- Liposarcoma
- Tumores de la pared del vascular
- Tumor de la vaina del nervio periférico
- Sarcoma pleomórfico
- Mesenquimoma

Dentro de los sarcomas de tejidos blandos están incluidos el leiomioma y rhabdomioma; sin embargo, se debe tener en cuenta que estos tumores tienen factores pronósticos diferentes, debido a que poseen diferencia en lugar de ocurrencia y metástasis⁶.

La evaluación de estos tumores implica reconocer una serie de patrones de crecimiento los cuales ayudan a direccionar u orientar los posibles orígenes de la neoplasia^{1, 4, 6, 14}; algunos de estos patrones de crecimiento son:

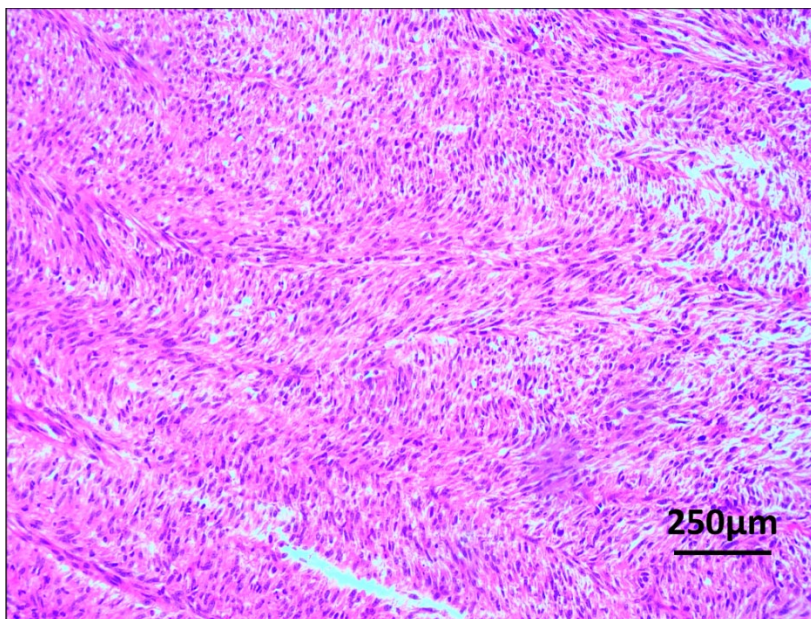
1. Fascicular: la población de células neoplásicas, se organizan paralelas una a otra para formar fascículos de un largo variable; estos pueden orientarse en diferentes direcciones dando una apariencia de fascículos perpendiculares (Fig. 3-1a); u orientados en una misma dirección como fascículos paralelos (Fig. 3-1b); estos patrones son observados en algunos leiomiomas.

Figura 3-1: Patrón fasciculado. a: Fascículos perpendiculares en un leiomiosarcoma en un canino. b: Fascículos paralelos en un leiomiosarcoma en un canino. (Imágenes tomadas en laboratorio de patología veterinaria de la Universidad Nacional de Colombia).



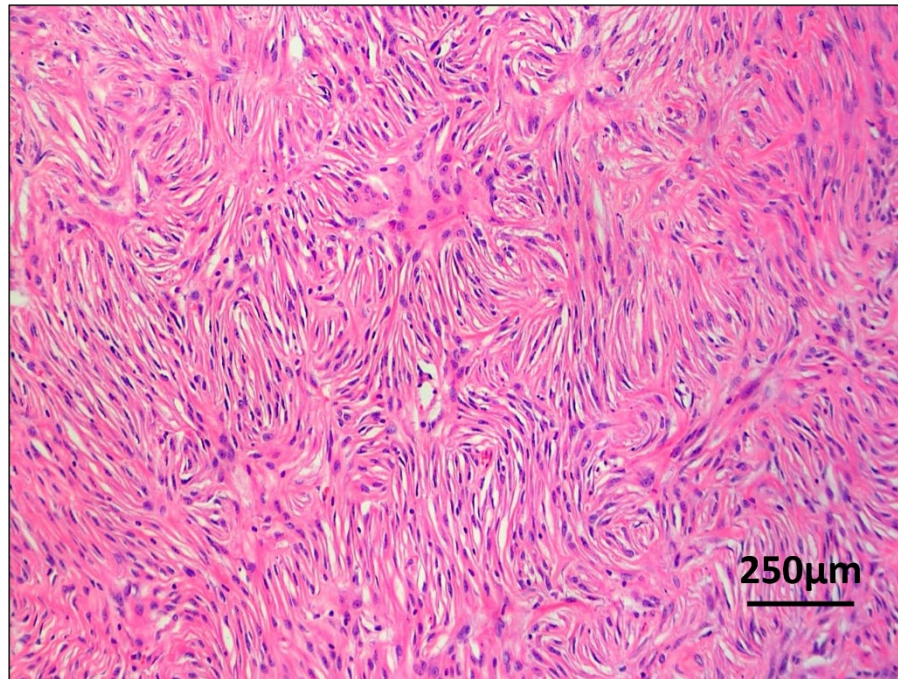
2. Espina de pescado: este patrón se caracteriza por formar fascículos cortos que se entrelazan entre sí dando una apariencia de zigzag (Fig. 3-2); este patrón puede observarse en algunos fibrosarcomas.

Figura 3-2: Patrón de espina de pescado en un fibrosarcoma en un canino. (Imagen tomada en el laboratorio de patología veterinaria de la Universidad Nacional de Colombia).



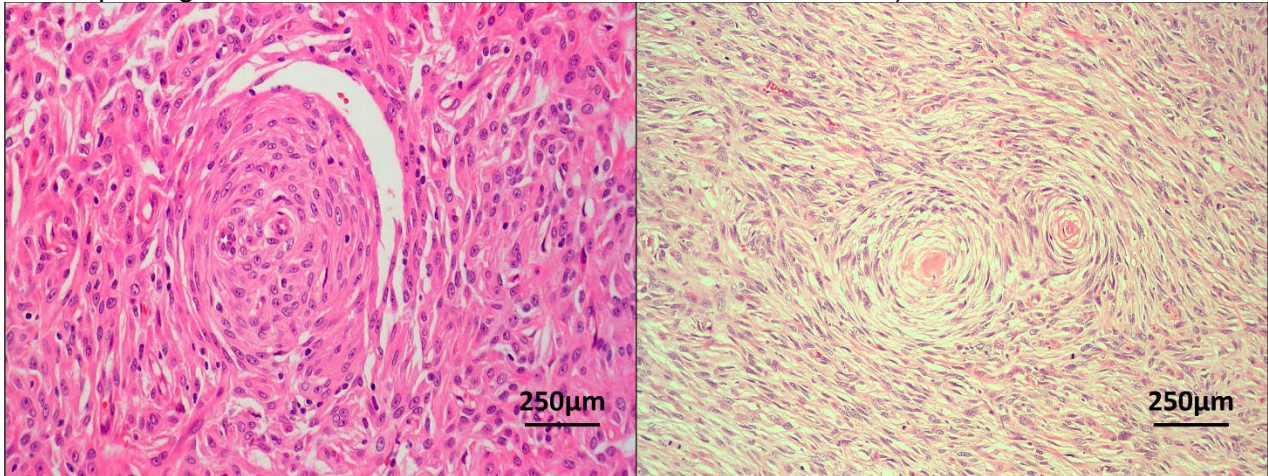
3. Estoriforme: las células neoplásicas se organizan en fascículos entrelazados de un largo variable, radiando de un punto central dando una vaga apariencia de espiral (Fig. 3-3); este patrón puede observado en tumores como el sarcoma anaplásico, dermatofibromas, neurofibromas, entre otros.

Figura 3-3: Patrón estoriforme en un tumor de la vaina del nervio periférico en un canino. (Imagen tomada en el Laboratorio de Patología Veterinaria de la Universidad Nacional de Colombia).



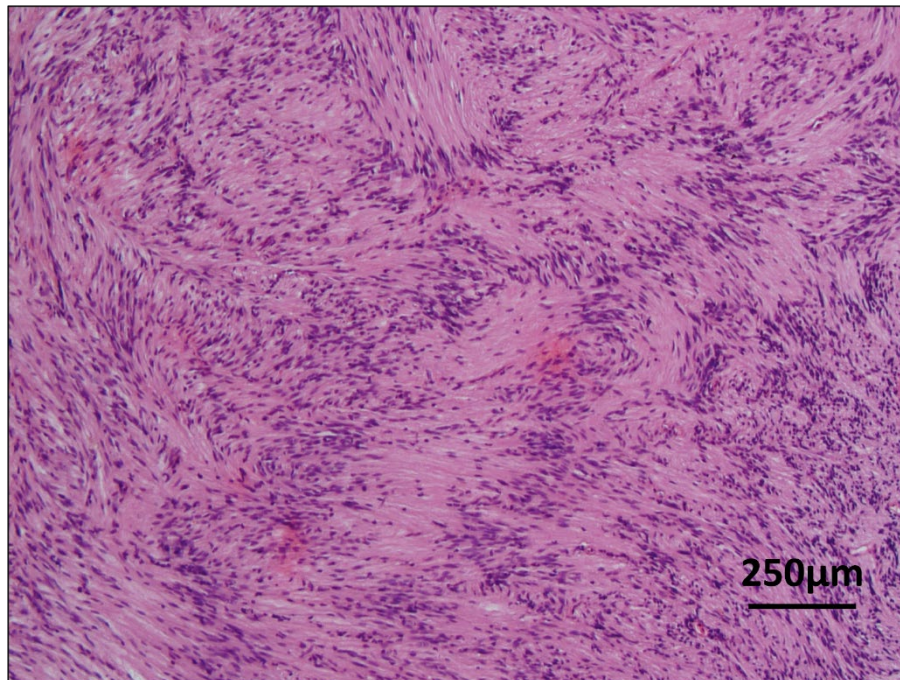
4. Arremolinado: las células neoplásicas se organizan en fascículos ondulantes que rodean vasos sanguíneos (Fig. 3-4a), o pequeños haces de colágeno (Fig. 3-4b); este patrón se observa en algunos tumores de la pared del vaso, o en tumores de la vaina del nervio periférico.

Figura 3-4: Patrón arremolinado. a: remolino perivascular en la vaina de la pared del vaso en un canino. b: remolinos que rodean pequeños haces de colágeno en un tumor de la vaina del nervio periférico en un canino. (Imagen tomada en el laboratorio de patología ve Patrón arremolinado. a: remolino perivascular en la vaina de la pared del vaso en un canino. b: remolinos que rodean pequeños haces de colágeno en un tumor de la vaina del nervio periférico en un canino. (Imagen tomada en el laboratorio de patología veterinaria de la Universidad Nacional de Colombia).



5. Palizada nuclear: en este patrón se observan los núcleos alineados en paralelo uno al lado del otro, estas bandas de núcleos se alternan con zonas claras desprovistas de núcleos (Fig. 3-5), estas zonas claras se denominan cuerpos de Verocay; este patrón es observado en tumores de origen neuronal como tumores de la vaina del nervio periférico, y raramente en leiomiomas.

Figura 3-5: Patrón de empalizada nuclear, también denominado Antoni A, en un tumor de la vaina del nervio periférico en un canino. (Imagen tomada en el laboratorio de patología veterinaria de la Universidad Nacional de Colombia).



Adicionalmente es importante la graduación histológica del tumor la cual se realiza teniendo en cuenta el grado de diferenciación, el índice mitótico, y el porcentaje de necrosis.

El grado de diferenciación se determina según el patrón histológico que forma el tumor, es decir en cuánto se parece el crecimiento tumoral al tejido mesenquimal normal de su origen histológico. Cuando el crecimiento es muy similar al tejido normal (puntuación de 1), cuando puede tener un patrón a penas reconocible, es decir una diferenciación intermedia (puntuación de 2), y cuando no tiene un patrón histológico bien definido, es decir una pobre diferenciación (puntuación de 3)⁶. Para determinar lo anterior se deben conocer los diferentes patrones que pueden llegar a formar los diferentes tipos de tumores que entran en esta clasificación (Tabla 3-1).

Tabla 3-1: Patrones comunes en sarcomas de tejidos blandos.

TIPO	PATRÓN HISTOLÓGICO
Fibrosarcoma	Haces entrecruzados, patrón de espina de pescado, pronunciado estroma de colágeno
Fibrosarcoma queloidal	Estroma de colágeno hialino
Mixosarcoma	Células fusiformes o estrelladas en estroma mucinoso
Liposarcoma	Células poligonales con citoplasma vacuolado
Tumor de la pared del vaso	Patrones de crecimiento vascular (patrón de cuerno de ciervo, placentoide, remolinos perivasculares, haces de túnica media)
Tumor de la vaina del nervio periférico	Haces entrecruzados, remolinos alrededor de haces de colágeno, antoni A, antoni B
Sarcoma pleomórfico	Mezcla de células fibroblásticas, cariomegalia, citomegalia, células histiocitoides multinucleadas en patrón estoriforme
Mesenquimoma	Múltiples células de tejido mesenquimal y componentes de matriz como osteoide, condroide, colágeno
Leiomiomasarcoma	Núcleo en forma de cigarro, citoplasma prominente
Rabdomiosarcoma	Estriaciones citoplasmáticas, células de raqueta y correa

En cuanto el índice mitótico se realiza un conteo en 10 campos de alto poder; una puntuación de 1 se considera cuando hay entre 0 a 9 mitosis, puntuación de 2 cuando hay entre 10 a 19 mitosis, y una puntuación de 3 si hay más de 19 mitosis. El conteo mitótico se debería realizar en áreas muy celulares en 10 campos contiguos, y áreas donde el índice mitótico sea alto; en caso de que el conteo sea cercano al punto de corte es recomendable contar nuevamente. Se debe evitar contar en zonas con necrosis, zonas hipocelulares o zonas ulceradas⁶.

Por último, para la necrosis se debe determinar el porcentaje aproximado de necrosis intratumoral siendo de puntuación de 0 si no se observa necrosis en el tumor, puntuación de 1 si hay menos o hasta el 50% de necrosis y puntuación de dos si hay más del 50% de

necrosis. La necrosis no debe ser confundida con cambio hialino o mucinoso, hemorragia o trauma asociado a la biopsia/cirugía⁶.

Con lo anterior se establece el grado histológico del tumor teniendo en cuenta la puntuación total (suma de la puntuación obtenida en el grado de diferenciación, índice mitótico y necrosis)⁶, determinando como:

- Grado I: puntuación menor o igual a 3.
- Grado II: puntuación entre 4 a 5.
- Grado III: mayor o igual a 6.

También se deben reportar los márgenes siempre y cuando sean evaluables, para ello se debe tener en cuenta que idealmente se debe citar la técnica de evaluación de márgenes. En este caso se considera como: Márgenes incompletos si las células neoplásicas son continuas en al menos uno de los márgenes quirúrgicos en cualquier plano; márgenes estrechos si la distancia entre los bordes quirúrgicos y las células neoplásicas es de al menos 3mm de grosor, o si los márgenes quirúrgicos no contienen tejido normal fuera de la pseudocapsula; márgenes completos si la distancia entre el borde quirúrgico y las células neoplásicas es de al menos entre 3 a 5mm¹⁰.

Con estos análisis se debe reportar el tumor como sarcoma de tejidos blandos, mencionando el grado que se definió y dando posibles diagnósticos diferenciales de acuerdo con la evaluación histológica definida. El diagnóstico definitivo solo puede hacerse con la ayuda de marcadores de inmunohistoquímica que permitan determinar el posible origen celular de la neoplasia^{1, 4, 5, 6, 10}. En la tabla 3-2 se hace un resumen de los marcadores que deben enviarse de acuerdo con los diagnósticos diferenciales mencionados.

Tabla 3-2: Marcadores de inmunohistoquímica con sarcomas de tejidos blandos.

TIPO	VIMENTINA	ACTINA DE MÚSCULO LISO	S- 100	CALPONINA	ENOLASA ESPECIFICA DE NEURONAS	DESMINA
Fibrosarcoma	+					
Fibrosarcoma queloidal	+					
Mixosarcoma	+					
Liposarcoma	+					
Tumor de la pared del vaso	+	+		+		+
Tumor de la vaina del nervio periférico	+		+		+	
Mesenquimoma	+					
Leiomioma	+	+		+		+
Rabdomiosarcoma	+		+		+	+

En la figura 3-6 se muestra la marcación inmunohistoquímica positiva en algunos tumores de caninos.

En la figura 3-7 se presenta un diagrama de flujo que ayuda al diagnóstico de sarcoma de tejidos blandos cutáneo y subcutáneo en caninos.

Figura 3-6: Marcación citoplasmática positiva en tumores en caninos. a: vimentina en fibrosarcoma. b: Enolasa específica de neuronas en un tumor de la vaina del nervio periférico. c: S-100 en un tumor de la vaina del nervio periférico. d: Desmina en tumor de la pared del vaso. e: Calponina en tumor de la pared del vaso. f: Actina de músculo liso en leiomioma. (Imágenes tomadas en el laboratorio de patología veterinaria de la Universidad Nacional de Colombia).

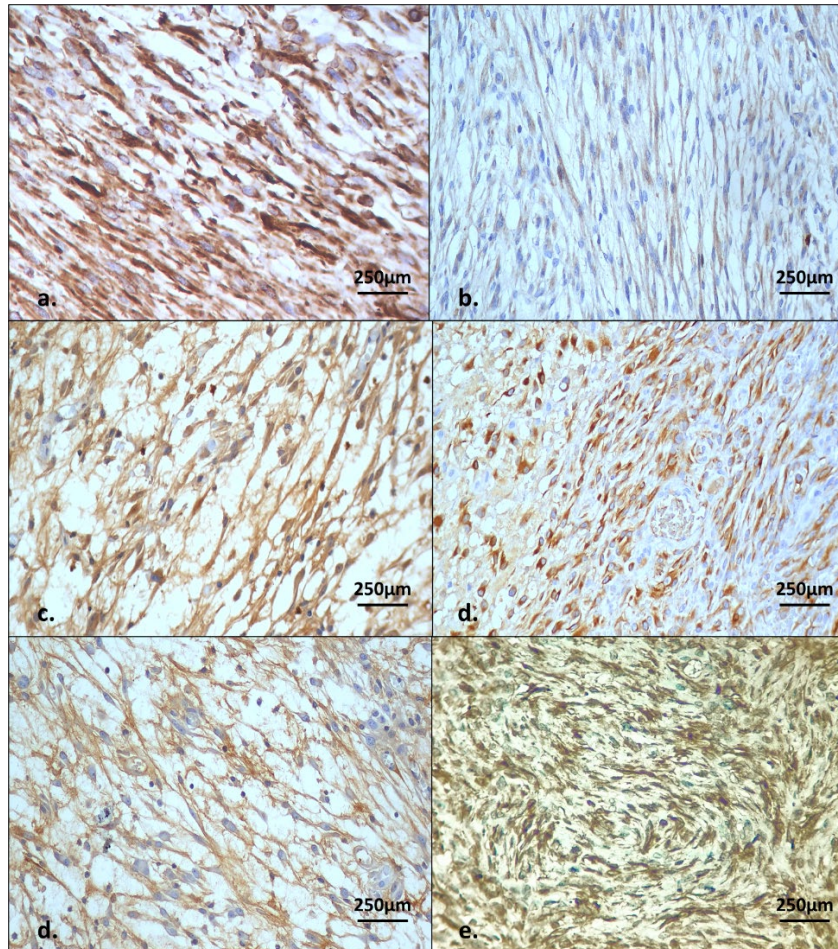
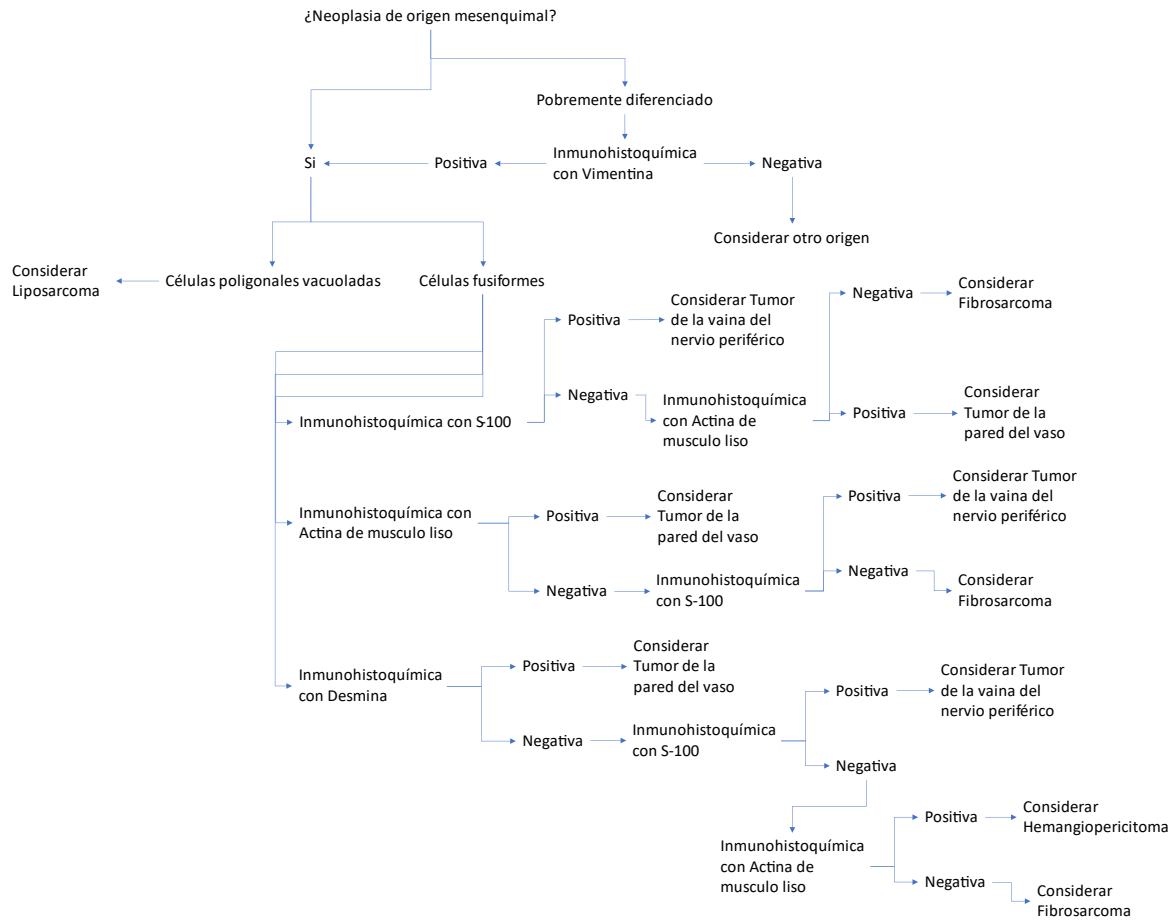


Figura 3-7: Diagrama de flujo para la interpretación de sarcomas de tejidos blandos.



A. Anexo: Propuesta protocolo corte macroscópico de masas cutáneas

Materiales:

- Guantes de nitrilo
- Tapabocas
- Gorro/cofia
- Cuchilla bisturí
- Tabla para corte

Procedimiento:

1. Una vez recibida la muestra, consignar en el formato de remisión la cantidad de frascos contenedores remitidos, tipo, material, o tapa del frasco, la rotulación de cada frasco, y cantidad de tejidos por frasco.
2. Realizar una descripción del tejido a cortar consignándolo en el formato de remisión, dicha descripción debe incluir las siguientes características del tejido:
 - a. Forma
 - b. Tamaño
 - c. Consistencia
 - d. Color
 - e. Condición de la epidermis (presencia de úlceras, erosiones, costras, etc.)
3. Una vez realizada la descripción del tejido completo, realizar una descripción de la masa incluyendo la siguiente información:
 - a. Ubicación de la masa (de crecimiento exofítico o sobresale de la piel; o en tejido dérmico/subcutáneo
 - b. Apariencia de la masa (nodular, papilar, quística, focal, multifocal, etc.)
 - c. Color de la masa
 - d. Consistencia de la masa (blanda, dura, o firme; en caso de poseer material óseo o cartilaginoso, se debe registrar)
4. En caso de que el tejido presente bordes (ya sea referenciados o no), se debe tratar de registrar la distancia entre el límite de la lesión con los

respectivos bordes; si estos están referenciados, se debe anotar cada medida por aparte.

5. Luego de registrar los anteriores datos, realizar los cortes de la muestra según se considere más adecuado para el tejido; tenga en cuenta que tejidos sospechosos de mastocitoma se recomienda realizar cortes tangenciales de los bordes; anotar en la remisión la técnica utilizada (cortes en intervalos regulares, cortes radiales o en cruz, cortes tangenciales).

Por último, en muestras cuyos bordes estén referenciados, teñir cada borde cortado con un color diferente, anotando a que borde corresponde cada color; en caso de que no estén referenciados, marcar todos los bordes con un mismo color.

B. Anexo: Propuesta protocolo evaluación de mastocitoma cutáneo y subcutáneo en caninos

Descripción de la neoplasia:

Para la evaluación de tumores de células de Mast se deben evaluar y describir los siguientes aspectos:

1. Características generales del tumor:
 - a. Localización: dermis superficial, profunda, e hipodermis (en caso de estar localizado en la hipodermis, es decir que las células neoplásicas estén rodeadas de tejido adiposo, considerar como mastocitoma subcutáneo).
 - b. Delimitación: se menciona como bien delimitada o pobremente delimitada.
 - c. Patrón de crecimiento: puede ser expansivo y/o invasivo; este último es más fácil de distinguir si las células tumorales se encuentran en epidermis, en hipodermis en caso de masas cutáneas, o en músculo esquelético.
 - d. Presencia de cápsula: si el tumor posee o no una cápsula de tejido conectivo.
 - e. Densidad celular: si la cantidad de células neoplásicas es escasa (pobremente celular), moderada (moderadamente celular) o si están en gran cantidad (abundantemente celular).
 - f. Patrón de organización: se debe describir como se organizan las células, donde lo mas frecuente es observar patrón de filas de células neoplásicas, paquetes de células o sin un patrón específico (solido).
2. Una vez descritas las características generales, realizar una descripción de las características celulares y citoplasmáticas que incluya:
 - a. Morfología de las células: los tumores bien diferenciados suelen tener una morfología redonda a poligonal.
 - b. Bordes celulares: si los bordes de las células neoplásicas son distinguibles o no se logran distinguir.

- c. Citoplasma: en tumores bien diferenciados, el citoplasma está cargado de abundantes gránulos basofílicos tenues.
 - d. Anisocitosis: se debe dar un grado de anisocitosis (variación del tamaño de las células) entre leve, moderada o severa.
 - e. Pleomorfismo celular: dar un grado de pleomorfismo (variación entre la forma de las células) entre leve, moderado o severo.
3. Posteriormente se debe realizar una descripción de los núcleos de las células neoplásicas que contenga:
 - a. Morfología nuclear: para tumores de bajo grado suelen ser núcleos redondos.
 - b. Patrón de cromatina: estas células suelen tener un patrón de cromatina granular laxa, sin embargo, también puede observarse cromatina vesicular.
 - c. Presencia, tamaño y cantidad de nucléolos por núcleo: los tumores bien diferenciados no suelen poseer nucléolo o un nucléolo pequeño y central.
 - d. Anisocariosis: se debe dar un grado de anisocariosis (variación del tamaño de los núcleos) entre leve, moderada o severa.
 - e. Pleomorfismo nuclear: dar un grado de pleomorfismo (variación entre la forma de los núcleos) entre leve, moderado o severo.
4. Una vez descritas las características celulares, se realiza el conteo mitótico el cual se debe realizar en 10 campos de alto poder (10 campos de 400x y dar el resultado en una medida de 2.37mm²). Adicionalmente, se debe reportar la cantidad de células multinucleadas (células con 3 o más núcleos), cantidad de células con núcleos bizarros, y un estimado en porcentaje de cariomegalia en las células neoplásicas.
5. Se deben reportar todas las características adicionales que puedan observarse en el tumor, como la presencia de células inflamatorias (usualmente eosinófilos), edema, necrosis, colagenolisis, etc.
6. Los bordes deben ser evaluados y en caso de estar referenciados, se debe reportar cada uno individualmente, mencionando si presentan o no, células neoplásicas.
7. Para el diagnóstico de la neoplasia se debe reportar como “Mastocitoma cutáneo” con sus respectivas graduaciones (pasos 8 y 9), o como “Mastocitoma subcutáneo” según corresponda. Tener en cuenta que las graduaciones histológicas se reportan únicamente en mastocitomas cutáneos.
8. La graduación de Patnaik, et al; 1984 se reporta en grados I, II, o III según los criterios de la tabla 1.
9. Para el sistema de graduación de Kiupel, et al; 2011, se tienen en cuenta los siguientes criterios para establecer un tumor como de alto grado:
 - a. Al menos 7 figuras mitóticas en 10 HPF
 - b. Al menos 3 células multinucleadas (3 o más núcleos) en 10 HPF

- c. Al menos 3 núcleos bizarros en 10 HPF
- d. Cariomegalia en al menos 10% de las células

Los tumores que no cumplan estas características son considerados como de bajo grado.

Tabla A-1: Grados de mastocitoma cutáneo en el sistema de Patnaik, et al; 1984.

Característica	Grado I	Grado II	Grado III
Localización	Dermis y espacios interfoliculares	Dermis y/o subcutis, musculos o tejidos adyacentes	Dermis, subcutis y tejidos adyacentes
Celularidad	Bajo	Moderada a alta	Alto
Distribución	Arcos o pequeños grupos	Grupos	Células estrechamente empaquetadas
Pleomorfismo	Bajo	Moderado	Intenso
Características citoplasmáticas	Limites distinguibles, con gránulos	Gránulos finos, algunos indistinguibles con gránulos grandes o hipercromáticos	Bordes indistinguibles, gránulos finos o no evidentes
Núcleo	Redondas con cromatina condensada	Redondos a indentados con cromatina densa	Indentados a redondos vesiculados
Nucléolo	No evidente	Único	Único o múltiples, prominentes
Edema y necrosis	Mínima	Difuso	Común
Binucleación	Ausente	Ocasional	Común
Células gigantes	Raras o ausentes	Difuso	Común
Estroma	-	Fibrovascular laxo a grueso, hialinización en algunas áreas	Fibrovascular o grueso y con hialinización del colágeno
Mitosis/ HPF	Ausente	0-2	3-6

Criterios diagnósticos adicionales:

Los tumores cuyo diagnóstico no pueda ser realizado por tinción de hematoxilina-eosina, pero que sean sospechosos de mastocitoma canino, se recomienda los siguientes criterios diagnósticos:

1. Realizar tinción de Giemsa: se considera positivo si los gránulos citoplasmáticos tiñen de una coloración azul a azul violáceo intenso.
2. Expresión de CD117 (*c-kit*): se considera positiva cuando la membrana citoplasmática y/o el citoplasma muestra expresión del inmunomarcador, sin embargo, se debe reportar el patrón de marcación en el resultado (ver en apartado de criterios pronósticos).

Criterios pronósticos en mastocitoma canino:

En caso de requerido, se realizan dos marcadores de inmunohistoquímica los cuales son:

- Ki67: se considera como positiva la expresión citoplasmática del marcador sobre las células neoplásicas. En este marcador, se cuenta la cantidad de células positivas en un campo de alto poder (campo de 400x), y se reporta como:
 - Índice alto: 23 o más células positivas por campo.
 - Índice bajo: menos de 23 células positivas por campo.
- CD117 (*c-kit*): al igual que en el marcador anterior, se considera positiva la marcación citoplasmática o membranosa y se debe reportar el patrón de marcación como:
 - Patrón 1 o perimembrana: marcación sobre la membrana de las células neoplásicas.
 - Patrón 2 o focal citoplasmático: marcación sobre un solo foco del citoplasma de las células neoplásicas.

Patrón 3 o marcación citoplasmática difusa: marcación sobre todo el citoplasma de las células neoplásicas.

C. Anexo: Propuesta protocolo evaluación de sarcoma de tejidos blandos cutáneo y subcutáneo en caninos

Descripción de la neoplasia:

En caso de evaluar tumores cutáneos o subcutáneos sugestivo de sarcoma de tejidos blandos, se debe evaluar y reportar lo siguiente:

1. Características generales del tumor:
 - a. Localización: dermis superficial, profunda, e hipodermis. Los tumores que provengan de localizaciones diferentes a piel y tejido subcutáneo, o en los que no se observe tejido cutáneo, no se clasifican dentro de este grupo.
 - b. Delimitación: se menciona como bien delimitada o pobremente delimitada.
 - c. Patrón de crecimiento: reportar como crecimiento invasivo o expansivo.
 - d. Presencia de cápsula: si el tumor posee o no una cápsula de tejido conectivo.
 - e. Patrón de organización: en caso de tumores de células fusiformes, se pueden observar patrones fasciculados largos paralelos o perpendiculares, espina de pescado, estoriforme, arremolinado, Antoni A, Antoni B, entre otros; se debe reportar el patrón más predominante en el tumor.
2. Realizar una descripción de las características celulares y citoplasmáticas que incluya:

- a. Morfología de las células: para estos tumores son frecuentes las células fusiformes y/o estrelladas.
 - b. Bordes celulares: si los bordes de las células neoplásicas son distinguibles o no se logran distinguir; usualmente los bordes no son distinguibles.
 - c. Citoplasma: la mayoría de los tumores de esta clasificación poseen abundante citoplasma, eosinofílico; tumores como el rbdomiosarcoma pueden poseer estriaciones citoplasmáticas.
 - d. Anisocitosis: se debe dar un grado de anisocitosis (variación del tamaño de las células) entre leve, moderada o severa.
 - e. Pleomorfismo celular: dar un grado de pleomorfismo (variación entre la forma de las células) entre leve, moderado o severo.
3. En cuanto a características nucleares se debe reportar:
 - a. Morfología nuclear: en tumores bien diferenciados suelen tener núcleos ovales alargados.
 - b. Patrón de cromatina: reportar patrón de distribución de la cromatina (granular, vesicular, marginada a la periferia) y su densidad (fina o densa).
 - c. Presencia, tamaño y cantidad de nucléolos por núcleo.
 - d. Anisocariosis: se debe dar un grado de anisocariosis (variación del tamaño de los núcleos) entre leve, moderada o severa.
 - e. Pleomorfismo nuclear: dar un grado de pleomorfismo (variación entre la forma de los núcleos) entre leve, moderado o severo.
 4. Realizar un conteo mitótico el cual se debe realizar en 10 campos de alto poder (10 campos de 400x y dar el resultado en una medida de 2.37mm²).
 5. Reportar en porcentaje, la cantidad de necrosis intratumoral; es decir, la cantidad de necrosis en el estroma neoplásico (no se tiene en cuenta necrosis asociada a úlceras u otros factores externos a la neoplasia).
 6. Se deben mencionar características adicionales como: presencia de células inflamatorias, ulceración epidermal, hemorragia, etc.
 7. Para el reporte de los bordes, en caso de que se encuentren referenciados, se debe reportar como:
 - a. Márgenes incompletos: si las células neoplásicas son continuas en los bordes.
 - b. Márgenes estrechos: si la distancia entre el margen y las células neoplásicas tienen un grosor menor a 3mm.
 - c. Márgenes completos: si la distancia entre el margen y las células neoplásicas tienen un grosor mayor a 3mm
 8. En el diagnóstico se reporta como "Sarcoma de tejidos blandos" y su respectivo grado, el cual se determina con las siguientes características:
 - a. Grado de diferenciación:
 - i. Puntuación de 1: si el patrón de crecimiento es similar al tejido normal (patrón de organización fácilmente reconocible).

- ii. Puntuación de 2: si el patrón de organización es a penas reconocible.
- iii. Puntuación de 3: si no se observa un patrón de organización definido.
- b. Índice mitótico (conteo mitótico en 10 campos de 400x):
 - i. Puntuación de 1: si se contabilizan entre 0 y 9 mitosis.
 - ii. Puntuación de 2: si se contabilizan entre 10 y 19 mitosis.
 - iii. Puntuación de 3: si se contabilizan más de 19 mitosis.
- c. Necrosis intratumoral:
 - i. Puntuación de 0: si no se observa necrosis intratumoral.
 - ii. Puntuación de 1: si hay hasta un 50% de necrosis intratumoral.
 - iii. Puntuación de 2: si hay más del 50% de necrosis intratumoral.

Estos puntajes se deben sumar para asignar el grado histológico del tumor según la puntuación final, estos grados son:

- Grado I: puntuación menor o igual a 3.
- Grado II: puntuación entre 4 a 5.
- Grado III: mayor o igual a 6.

Bibliografía

1. Avallone, G., Helmbold, P, Caniatti, M, Stefanello, D, Nayak, R C, & Roccabianca, P (2007). The Spectrum of Canine Cutaneous Perivascular Wall Tumors: Morphologic, Phenotypic and Clinical Characterization. *Veterinary Pathology*, 44(5), 607–620.
2. Avallone, G., Rasotto, R., Chambers, J. K., Miller, A. D., Behling-Kelly, E., Monti, P., ... Roccabianca, P. (2021). Review of Histological Grading Systems in Veterinary Medicine. *Veterinary Pathology*, 58(5), 809–828. Dei Tos, A (2018). Introduction. In A. Dei Tos (Author), *Soft Tissue Sarcomas: A Pattern-Based Approach to Diagnosis* (pp. 1-32). Cambridge: Cambridge University Press.
3. Cannas J. P. & Shonning P. (1994) Canine mast cell tumors: a comparison of staining techniques. *J Vet Diagn Invest* 6:458-465.
4. Dei Tos, A (2018). Introduction. In A. Dei Tos (Author), *Soft Tissue Sarcomas: A Pattern-Based Approach to Diagnosis* (pp. 1-32). Cambridge: Cambridge University Press.
5. Del Alcazar, C M, Mahoney, J A, Dittrich, K, Stefanovski, D, & Church, M E (2021). Outcome, prognostic factors and histological characterization of canine gastrointestinal sarcomas. *Veterinary and Comparative Oncology*, 19(3), 578–586.
6. Dennis, M M, McSporran, K D, Bacon, N J, Schulman, F Y, Foster, R A, & Powers, B E (2010). Prognostic Factors for Cutaneous and Subcutaneous Soft Tissue Sarcomas in Dogs. *Veterinary Pathology*, 48(1), 73–84.
7. Jakab, C, Gálfi, P, Jerzsele, Á, Szabó, Z, Németh, T, Sterczer, Á, Rusvai, M, & Ózsvári, L (2012). Expression of claudin-1 in canine peripheral nerve

- sheath tumours and perivascular wall tumours. Immunohistochemical study. *Histology and histopathology*, 27(7), 905–917.
8. Kamstock, D A, Ehrhart, E J, Getzy, D M, Bacon, N J, Rassnick, K M, Moroff, S D, Kiupel, M (2010). Recommended Guidelines for Submission, Trimming, Margin Evaluation, and Reporting of Tumor Biopsy Specimens in Veterinary Surgical Pathology. *Veterinary Pathology*, 48(1), 19–31.
 9. Kiupel, M, Webster, J D, Bailey, K L, Best, S, DeLay, J, Detrisac, C J, Miller, R (2010). Proposal of a 2-Tier Histologic Grading System for Canine Cutaneous Mast Cell Tumors to More Accurately Predict Biological Behavior. *Veterinary Pathology*, 48(1), 147–155.
 10. Meuten, D J, Moore, F M, Donovan, T A, Bertram, C A, Klopfeisch, R, Foster, R A, Whitley, D (2021). International Guidelines for Veterinary Tumor Pathology: A Call to Action. *Veterinary Pathology*, 58(5), 766–794.
 11. Patnaik, A. K., Ehler, W. J., & MacEwen, E. G. (1984). Canine cutaneous mast cell tumor: morphologic grading and survival time in 83 dogs. *Veterinary pathology*, 21(5), 469–474.
 12. Strefezzi, Ricardo & Kleeb, Silvia & Xavier, J.G. & Catão-Dias, José. (2009). Prognostic indicators for mast cell tumors. *Braz J Vet Pathol Brazilian Journal of Veterinary Pathology*. 2. 110-121.
 13. Webster, J D, Yuzbasiyan-Gurkan, V, Miller, R A, Kaneene, J B, & Kiupel, M (2007). Cellular Proliferation in Canine Cutaneous Mast Cell Tumors: Associations with c-KIT and Its Role in Prognostication. *Veterinary Pathology*, 44(3), 298–308.
 14. Wippold, F J, Lubner, M, Perrin, R J, Lammle, M, & Perry, A (2007). Neuropathology for the Neuroradiologist: Antoni A and Antoni B Tissue Patterns. *American Journal of Neuroradiology*, 28(9), 1633–1638.