

Citología cutánea veterinaria

La citología dentro del diagnóstico veterinario se considera una herramienta útil por sus ventajas y por la información que se obtiene de ella. Debido al alto número de procesos que aparecen en piel, este artículo se centra en la citopatología cutánea de lesiones que se pueden encontrar en la clínica diaria.

Palabras clave: Citología cutánea. Lesiones inflamatorias y no inflamatorias. Neoplasias.
Rev. AVEPA, 23(2): 75-87, 2003

Introducción

**C. Fernández,
J. C. Jiménez de la Puerta,
A. Aguilar.**

Clínica Veterinaria
Manzanares.
Pº Virgen del Puerto 9
28005-Madrid.



¿Cuándo y cómo la citología nos ayuda en el diagnóstico? En muchas ocasiones, lesiones de distinta etiología no se diferencian externamente unas de otras, y es necesario tener una visión más cercana del proceso que se está desarrollando *in situ* a través del estudio detallado de las células presentes, los posibles agentes implicados y la respuesta inmune generada. Después de esta valoración podremos:

- Definir procesos *inflamatorios, infecciosos y neoplasias* y establecer su estirpe celular (epitelial, conjuntiva, células redondas).
- Encontrar agentes *etiológicos 1.º o 2.º y oportunistas*: protozoos (leishmanias microfilarias, por ej.), bacterias, ectoparásitos, hongos y levaduras. (Fig. 1-3).
- Corroborar un diagnóstico previamente realizado o descartar otros.
- Control del seguimiento del tratamiento establecido, para valorar su eficacia y al mismo tiempo la evolución del proceso.

Además se pueden extrapolar estas funciones en otros órganos (hígado, bazo, próstata, pulmón, ojos, etc.), líquidos corporales (derrames en tórax, abdomen, articulaciones, orina, etc.), tanto en vivo como en necropsias.

También está indicada para:

- Definir las *fases de ciclo fisiológico en vagina*.
- Valorar la respuesta inmunitaria del organismo en médula ósea, sangre y ganglio, frente a agresiones externas o internas (desórdenes linfoproliferativos, mieloproliferativos o mielodisplásicos).

Es importante indicar que para que la citología tenga valor diagnóstico, debe estudiarse conjuntamente con el resto de las pruebas realizadas al paciente (bioquímica, Rx, ecografía...), histórico clínico, sintomatología y exploración física. Por tanto, el reconocimiento de la patología a nivel celular ayuda a comprender la ambigüedad de la lesión macroscópica.

Técnicas de recogida de muestras

Aunque los pasos previos al estudio citológico, recogida de muestras y procesado, no son complicados, sí requieren un entrenamiento práctico para poder interpretar correctamente la citología y evitar errores. Podemos usar distintas técnicas: raspados, improntas, aspiración con aguja fina (AAF), técnica de no aspiración e hisopados.

Raspado: Se utiliza una hoja de bisturí y parafina, en superficies cutáneas, úlceras, erosiones y sobre todo en la búsqueda de ectoparásitos; también en nódulos o tumores después de su eliminación quirúrgica para determinar el tipo de células de estratos más internos^{1,2} y es funda-





Figura 1. *Penicillium*, hongo contaminante en cultivo de DTM (Dermatophyte Test Medium).

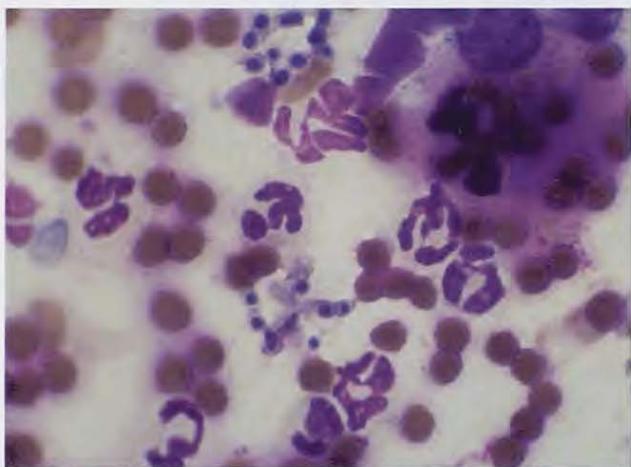


Figura 2. Conidios junto con neutrófilos en un kerion cutáneo.

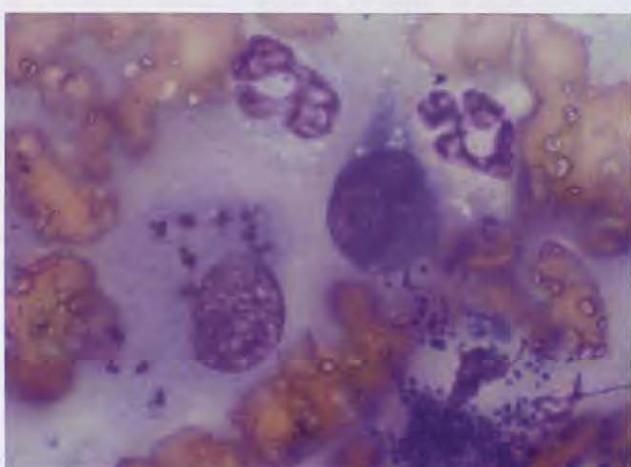


Figura 3. Macrófago fagocitando amastigotes de leishmania y bacterias adyacentes en almohadilla de perro.

mental para valorar mucosa conjuntival, en la que se requiere una espátula ocular.

-Impronta^{1,3}: Consiste en posicionar suavemente el portaobjetos sobre superficies sólidas, húmedas o grasiéntas, habiendo retirado antes el exceso de sangre y detritus con una gasa. También se pone sobre nódulos y tumores, después de su exéresis quirúrgica, de hacer un corte profundo en la masa, que deja libre una superficie sobre la que realizaremos la impronta.

-Aspiración con aguja fina (AAF)^{1,2,4,5}: Sobre nódulos firmes, quistes, masas subcutáneas o vesículas. Se utilizan agujas de 22-25 G y jeringas de 5-10 cc. Se sujetan la zona manualmente, se introduce la aguja y se realizan aspirados en distintas direcciones y de distintos puntos, liberando la presión negativa en cada aspirado. Si no vemos ninguna muestra en la jeringa no significa que no obtengamos células, éstas quedarán en el cilindro de la misma. Antes de retirar la aguja, se libera la presión negativa sobre el émbolo, después se separa la aguja y se carga la jeringa con aire, se coloca de nuevo la aguja y se expulsa el contenido sobre un portaobjetos. Repitiendo esta operación varias veces, se obtendrán pequeñas gotas que extenderemos suavemente y sin paradas con otro portaobjetos colocado encima (*squash*). Para evitar la coagulación de la muestra y la degeneración, debe procesarse inmediatamente.

-Técnica de no aspirado^{1,6}: Es una modificación de la anterior basada en el principio de capilaridad y en la que no es necesario aplicar presión negativa. Es útil sobre tejidos con alta vascularización y vísceras (hígado, riñón, bazo o tiroides). Se introduce la aguja (22 G) en el interior de la zona y se realizan varios movimientos rápidos hacia adelante y atrás sin variar la dirección. Las células se introducen en el cono de la aguja por capilaridad, de manera que permite disminuir el riesgo de hemodilución al no aplicar presión negativa. Se obtendrá un escaso volumen de muestra pero con mayor representación celular, que se expulsará con ayuda de una jeringa sobre un portaobjetos igual que en la técnica de A.A.F.

-Hisopado^{1,5}: Se rueda un hisopo previamente humedecido con solución salina en superficies de difícil acceso: fistulas, mucosa bucal, región interdigital, vagina, oídos, etc.

Pautas para la adecuada obtención y estudio de la muestra¹⁻⁴:

- Utilización de portaobjetos nuevos para evitar restos de muestras anteriores.

- Recoger varias muestras, para obtener una mayor representación celular, y secar al aire.

- Evitar la contaminación de sangre en la AAF, ya que diluye la muestra y disminuye su representatividad.

- Habitualmente se utiliza la tinción rápida de tipo Romanowsky, Diff-Quick.

- Solamente se deben valorar de áreas de células en monocapa que se encuentren íntegras y no hayan sufrido daños en el procesado para evitar confundirlas con células

Población leucocitaria y fagocitaria

- Neutrófilos adultos no degenerados y degenerados.
- Eosinófilos
- Linfocitos adultos, células plasmáticas y linfoblastos.
- Macrófagos y células gigantes o epiteloides.

Tabla 1. Población leucocitaria y fagocitaria

malignas. Se debe observar primero a bajos aumentos, 10x, y localizar una zona representativa con adecuada celularidad; después a 40 o 50x, para el estudio celular más detallado. El objetivo de inmersión, 100x, se emplea para detalles de citoplasma y núcleo.

Células implicadas y clasificación de las lesiones²: (Tabla 1)

Encontraremos una población específica **leucocitaria y fagocitaria** que responde a agresiones externas e internas, y una **población noble** que determina el origen de las células implicadas en la lesión: **epitelial, mesenquimatoso y células redondas**.

-**Población leucocitaria y fagocitaria**^{2,7}. Está constituida por *neutrófilos adultos no degenerados* con una morfología semejante a los encontrados en sangre periférica, núcleo hipersegmentado basófilo y citoplasma pálido. Aparece en procesos donde existe un componente inflamatorio no purulento. Es posible que el núcleo experimente cambios como picnosis y cariorrexis, que son procesos de muerte celular, donde el núcleo se condensa, aumenta su basofilia, pierde las lobulaciones y aparece como una única o varias estructuras redondas de distinto tamaño.

Neutrófilos adultos degenerados (Fig. 4). Como consecuencia del ambiente tóxico creado, sufren rápidamente cambios que afectan a núcleo, cariolisis, muestran tumefacción, bordes deshilachados, tinción rosada y pérdida de membrana citoplasmática. El citoplasma puede aparecer vacuolizado por digestión enzimática¹⁰ y contener bacterias fagocitadas en su interior⁵. Son propios de infecciones sépticas bacterianas.

Eosinófilos. Son semejantes a los que se encuentran en sangre circulante y generalmente se encuentran asociados a una sintomatología cutánea de prurito, edema, tumefacción, etc. Están presentes en procesos alérgicos e hipersensibilidad, parasitarios, presencia de cuerpo extraño, fúngicos, complejo granuloma eosinofílico y en algunas neoplasias (Fig. 5).

Linfocitos adultos. Son como una población heterogénea

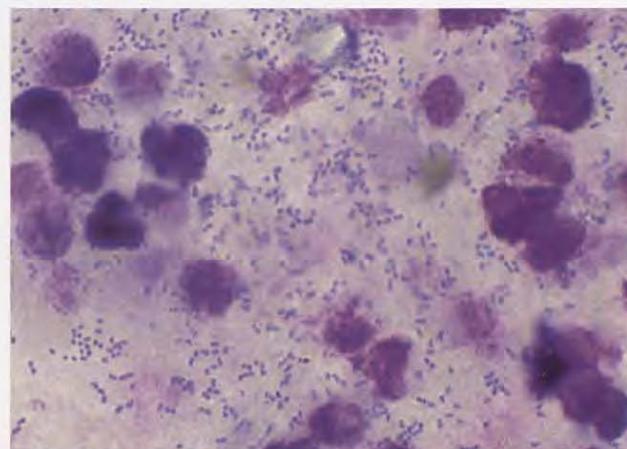


Figura 4. Neutrófilos degenerados en una infección purulenta con abundante población bacteriana.

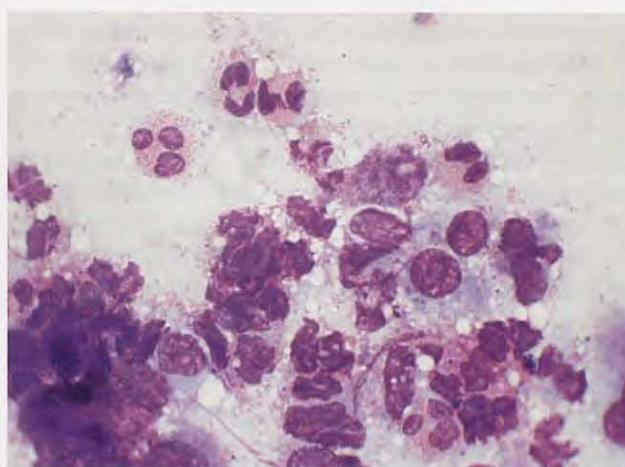


Figura 5. Placa eosinofílica en gato con presencia de numerosos eosinófilos, algunos degranulados.

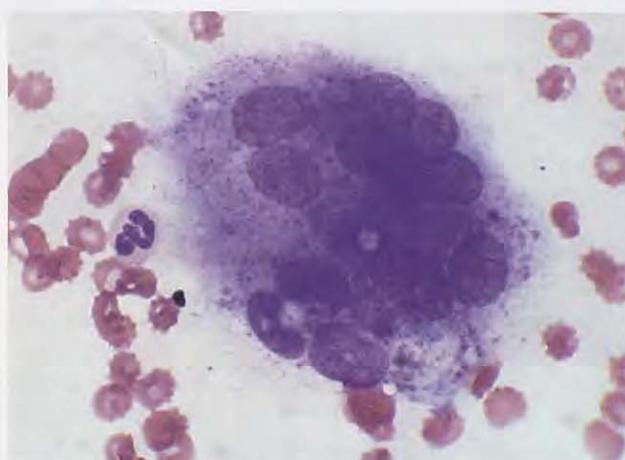


Figura 6. Célula multinucleada gigante en una lesión inflamatoria de tipo granulomatoso.

Población noble	
Células de epitelio glandular	
no glandular	células basales, escamosas, queratinocitos.
Células mesenquimatosas	células de musculatura lisa y estriada, células óseas y de cartílago, células lipídicas, células vasculares.
Células redondas	mastocitos, histiocitos, células de TVT, células linfoides (linfocitos, linfoblastos, células plasmáticas).

Tabla 2. Población noble

de tamaño pequeño e intermedio, con núcleo basófilo y escaso citoplasma. Están relacionados con lesiones crónicas, fúngicas, con mediación inmunitaria compleja. Pueden verse acompañados por células plasmáticas, que se diferencian por la existencia de una zona perinuclear clara, el aparato de Golgi y un citoplasma más abundante y azul más pálido. Las formas inmaduras, *linfoblastos*, de mayor tamaño, con cromatina menos basófila y nucleolo/s visible/s y prominentes en una cantidad >50%, aparecen en linfomas cutáneos.

Macrófagos, células gigantes epiteloides. Son células encargadas de fagocitar células, restos celulares, cuerpos extraños, pigmentos, agentes infecciosos, etc. Tienen un tamaño mediano/grande y morfología variable y muestran un citoplasma con vacuolas fagocitarias si están activados, pudiendo incluir partículas digeridas. Cuando se presentan multinucleados se denominan *células gigantes o epiteloides* (Fig. 6) por su semejanza con las células epiteliales. Están presentes donde existe una actividad fagocitaria incrementada, necrosis celular, hemorragias antiguas, presencia de agentes infecciosos (protozoos, hongos, bacterias) (Fig. 3) procesos cronificados, cuerpos extraños y neoplasias.

-Población noble²: (Tabla 2).

Células epiteliales, de origen glandular, con citoplasma vacuolizado, al tener una función productora y secretora, y **no glandular**, de superficie (células basales, escamosas y queratinocitos).

En general son células grandes que se presentan en agrupaciones o clusters de moderada/alta celularidad; dispuestas en sábana; formando acinis, las de origen glandular, y en hileras las no glandulares; con bordes citoplasmáticos unidos por desmosomas o uniones intercelulares, y de fácil exfoliación. Tienen el núcleo redondo u ovalado, cromatina finamente reticular y suave basofilia, con o sin nucleolos visibles de pequeño tamaño; el citoplasma es abundante y pálido. En las de origen no glandular, la relación nucleocitoplasmática (N:C) va disminuyendo cuanto más superficiales son, y adquieren al mismo tiempo bordes angulosos y núcleo picnótico, que lle-

**Figura 7.** Mastocito de gran tamaño con abundantes granulaciones citoplasmáticas.

gan a perder en los queratinocitos, donde muestran una imagen muy semejante a una fase de estro vaginal.

Células mesenquimatosas, generalmente con morfología fusiforme o estrellada, alargada en los polos, bordes citoplasmáticos poco definidos y tinción azul pálido. Tienen tamaño intermedio y exfolian en baja/muy baja cantidad, conservando su individualidad sin estar unidas entre ellas. Tienen el núcleo ovalado o redondo y pueden verse o no nucleolos de tamaño pequeño. Suelen acompañarse de una matriz amorfía extracelular acidófila. Esta estirpe incluye una gran variedad de células componentes de estructuras conjuntivas especializadas: *células de musculatura lisa y estriada, de tejido óseo y cartílago, adiposo, nervioso, endotelio vascular*, etc.

Células redondas², donde se incluyen *mastocitos, histiocitos, linfocitos, células plasmáticas y células de tumor venéreo transmisible (TVT)*, que constituye una entidad neoplásica. Con un tamaño pequeño/mediano, tienen una exfoliación intermedia y se mantienen individualizadas. Presentan núcleo redondo o arriñonado y bordes citoplasmáticos nítidos. Algunas presentan estructuras diferenciales como granulaciones citoplasmáticas típicas, en los mastocitos (Fig. 7), pequeñas y múltiples vacuolas citoplasmáticas, en células del TVT, área perinuclear clara, el aparato de Golgi, en las células plasmáticas.

Clasificación de las lesiones¹: (Tabla 3).

Una vez recogida y teñida la muestra, el siguiente paso es definir el tipo de lesión: *inflamatoria, neoplásica o no inflamatoria*.

Inflamatoria: La población celular implicada incluye *neutrófilos, linfocitos, eosinófilos y macrófagos*. Según el tipo predominante se clasifican en:

-Purulentas^{1,2,7}: presentan >85% de neutrófilos y la mayor parte degenerados. Son propias de infecciones bacte-

Servei de Biblioteques

Biblioteca de Veterinària

Lesiones inflamatorias

Purulentas sépticas	>85% de neutrófilos y la mayoría degenerados.
No sépticas	predominio de neutrófilos no degenerados.
Piogranulomatosas	población mixta de neutrófilos y macrófagos.
Granulomatosas	macrófagos y células gigantes o epitelioides.
Eosinofílicas	>10-15% de eosinófilos.

Tabla 3. Población noble

rianas, por lo que es posible encontrarlas en el interior del citoplasma de neutrófilos y/o libres en el fondo en forma cocoide, bacilar, en cadenas, etc., aunque pueden no estar presentes (Fig. 4).

En inflamaciones purulentas no sépticas, los neutrófilos no están degenerados y muestran una morfología polilobulada típica, sin alteraciones nucleocitoplasmáticas^{2,5}. Aparecen ante cuerpos extraños, procesos inmunomediatorios, traumatismos, quemaduras y agentes irritantes o acompañando a neoplasias.

-**Piogranulomatosas**^{2,7}: presentan una población mixta de neutrófilos con signos de degeneración y macrófagos activos, también está presente una población linfoide adulta. Implican una variedad de lesiones antiguas, cronificadas, donde están estimulados el sistema inmunitario y la actividad fagocitaria. Es común detectar elevada celularidad, necrosis y restos celulares. Corresponden con infecciones fúngicas, bacterianas, micobacterias y cuerpos extraños (Fig. 3).

-**Eosinofílicas**^{2,7}: junto con una población mixta inflamatoria, existe un incremento de los eosinófilos de >10-15%, además de que pueden aparecer mastocitos. Corresponden a procesos de hipersensibilidad por patologías alérgicas, parasitarias, fúngicas, granulomas eosinofílicos y reacción a cuerpo extraño o acompañando a neoplasias (Fig. 5).

-**Granulomatosas**^{2,7}: la presencia mayoritaria corresponde a una población fagocitaria, macrófagos activos con abundante citoplasma vacuolizado, algunos contienen partículas digeridas y células gigantes multinucleadas o epitelioides (Fig. 6). Son propias de procesos donde existe destrucción celular, infecciones por protozoos, micobacterias, hongos y cuerpos extraños.

A veces, no solamente es posible clasificar la lesión en función del tipo de población inflamatoria existente, sino que también es posible emitir un primer diagnóstico al encontrar el agente infeccioso responsable de la respuesta inmunitaria celular que define dicha lesión (bacterias, micobacterias, protozoos, estructuras fúngicas, etc.).

Neoplasias: en el estudio citológico de las neoplasias hay que plantearse y dar respuesta a una serie de cuestiones:

¿Es realmente una neoplasia?, ¿a qué estirpe corresponde?, ¿es benigna o maligna?. En este caso hay que enunciar los criterios de malignidad observados¹⁰.

A veces es difícil establecer si la causa de las alteraciones celulares se producen por la misma neoplasia o si son displásicos al existir un proceso inflamatorio asociado^{3,22}. La presencia de >3 neutrófilos por campo de 100x apoya la existencia

de inflamación presente en la muestra y, por tanto, los cambios observados en las células deben ser interpretados con cautela, si bien es cierto que los caracteres citoplasmáticos se ven más afectados ante las displasias que los nucleares. Así, frente a un examen dudoso o sospechoso, hay que realizar estudio histopatológico⁴. Al mismo tiempo, la ausencia de inflamación y la existencia de caracteres de malignidad, sobre todo nucleares, son indicativos de neoplasia maligna¹.

Las células que forman parte de la misma línea celular tienen un origen embrionario común y portan la misma información genética en los cromosomas que las diferencian de las demás¹⁰. La alteración de esa información puede provocar cambios en su ciclo celular, división, maduración, morfología, comportamiento y función, dando como resultado un desarrollo asincrónico y una proliferación celular no acompañados de la diferenciación normal^{4,10}. La expresión microscópica de estos cambios nucleares, citoplasmáticos y de población constituye los criterios de malignidad que se presentan en las neoplasias.

Dentro de los criterios de malignidad, los nucleares tienen mayor peso e importancia en el diagnóstico de neoplasia^{1,3}. Los citoplasmáticos son menos fiables al estar más influenciados por procesos inflamatorios, necrosis y sirven más como apoyo al diagnóstico definitivo de neoplasia⁴.

Para valorar y establecer correctamente los criterios de malignidad, hay que excluir las células que no estén intactas, núcleos desnudos, áreas de inflamación y/o necrosis³.

Criterios nucleares^{1,3,4,10}:

-**Anisocariosis** (Fig. 8). Se refiere al distinto tamaño nuclear entre células de la misma estirpe en la muestra y es especialmente significativa entre los núcleos de células multinucleadas.

-**Macrocariosis** (Figs. 8 y 10). Consiste en un aumento del tamaño del núcleo (>10 μ), que puede adquirir tamaños gigantes en las neoplasias muy poco diferenciadas. Se toma como valor de referencia el tamaño de un eritrocito (6-8 μ).

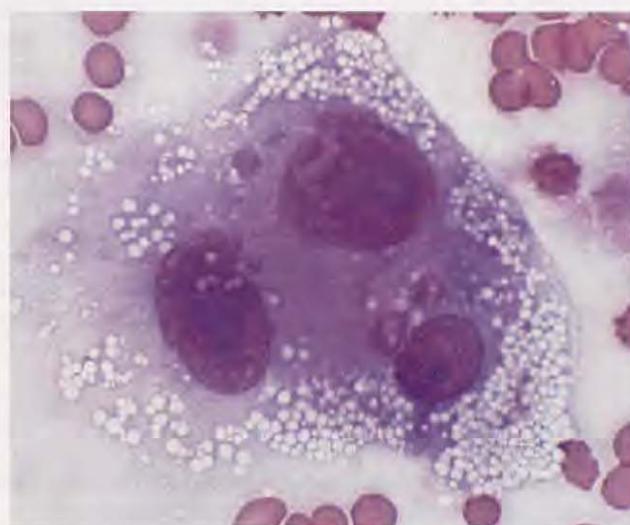


Figura 8. Criterios de malignidad nuclear: anisocitosis, anisocariosis y macronucleolos en fibrosarcoma felino posvacunal.

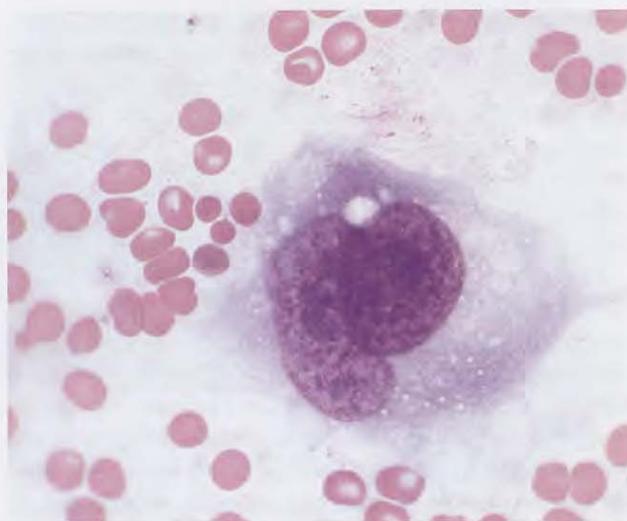


Figura 9. Célula multinucleada con nucleolos prominentes en sarcoma felino.

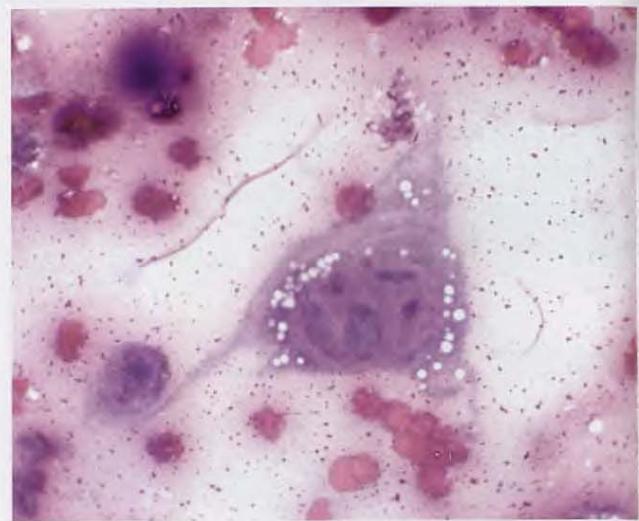


Figura 10. Aumento del volumen nucleolar con morfología fusiforme y angular, signos de intensa malignidad en fibrosarcoma canino.

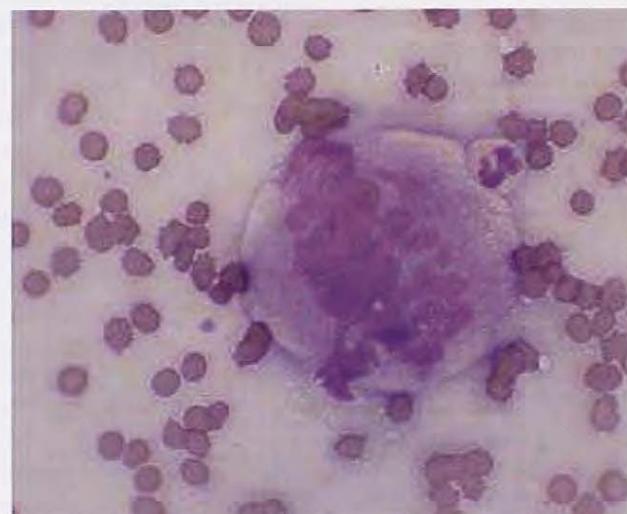


Figura 11. Mitosis gigante atípica en sarcoma felino.

Frecuentemente va unido a un índice N:C elevado.

-*Bi o multinucleación*. Se observan dos o más núcleos dentro del mismo citoplasma (Fig. 9), muestra de la alteración del ciclo de división celular normal. Son excepción los histiocitos, en los que no se considera signo de malignidad. Hay que diferenciarlas de las células gigantes multinucleadas, osteoclastos y la endomitosis sufrida en los estadios de maduración de las plaquetas (megacariocitos).

-*Incremento del patrón de la cromatina*. Se forman densos grumos hipercromáticos debido al incremento de ADN y distribución anormal en la periferia nuclear.

-*Incremento del volumen nucleolar*, tanto en tamaño ($>5\mu$), número y prominencia con intensa basofilia (Fig. 8, 9 y 10).

-*Aumento de la relación N:C*, una proporción $>1:2$, sugiere malignidad, con excepción de las células linfoides. Suele estar relacionado con la presencia de macronúcleos.

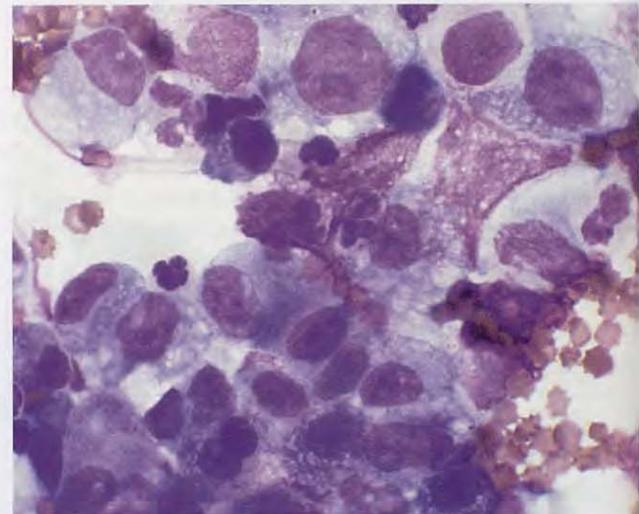


Figura 12. Pleomorfismo, anisocariosis, elevada celularidad y alta basofilia en adenocarcinoma felino.

-*Anisonucleosis y formas irregulares de y entre los nucleolos*, apareciendo como fusiformes, angulosos y con distinto tamaño dentro del mismo núcleo (Fig. 10).

-*Aumento de las mitosis y si éstas son atípicas*, husos multipolares, asimétricos (Fig. 11).

-*Molding*, deformación del núcleo alrededor de otro núcleo vecino, como consecuencia de la pérdida de inhibición celular por contacto y el rápido crecimiento de la célula tumoral.

Criterios citoplasmáticos^{1,3,4,10}:

-*Incremento de la basofilia* (Fig 12), debido a la riqueza de ARN citoplasmático, que indica un alto metabolismo celular que existe en las células tumorales.

-*Vacuolización citoplasmática o perinuclear* (Fig.13). Puede ser una única vacuola que desplaza al núcleo a la periferia, "anillo de sello" (ej. adenocarcinomas) o múltiples y pequeñas. Hay que diferenciarlas de las células de epitelio glan-

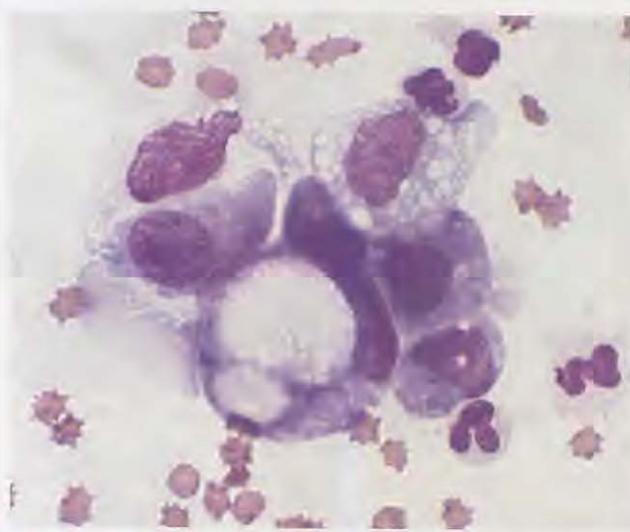


Figura 13. Célula en forma de “anillo de sello” con desplazamiento del núcleo a la periferia por una gran vacuola en un adenocarcinoma.

dular, macrófagos, hepatocitos y células mesoteliales, que también presentan vacuolas citoplasmáticas con otro significado.

Criterios de población^{1,3,4,10}:

-*Aumento de la exfoliación*, sobre todo en células de origen conjuntivo, por una tendencia a la pérdida de cohesión celular.

-*Pleomorfismo y anisocitosis* (Fig 12). Aparece un conjunto celular con distintas formas y tamaños, lo que supone pérdida de la homogeneidad y una forma anárquica y desordenada. La población linfoide no debe incluirse en este apartado, ya que exhibe con normalidad un conjunto de células heterogéneas según el grado de maduración y actividad.

-*La existencia de una predominante población reactiva de eosinófilos o linfocitos*, puede aparecer en algunas neoplasias.

-*Signos de necrosis celular, cariorrexis, picnosis*. Pueden aparecer en las zonas centrales de los tumores por un deficiente aporte sanguíneo, lo que provoca una necrosis isquémica.

El hallazgo de tres o más criterios de malignidad asociadas al núcleo, en ausencia de inflamación, y que se repiten de forma constante en las células de cualquier zona de la preparación debe ser considerado como altamente sospechoso de malignidad^{1,4,13}. La inflamación puede provocar displasia celular y ser la responsable de tres o más criterios de malignidad presentes⁴, en este caso, la suma de criterios nucleares y citoplasmáticos debe ser superior a cuatro para sugerir malignidad¹⁶. Existen excepciones como en el caso de histiocitomas, tumores benignos que muestran binucleación, mitosis frecuentes y anisocitosis³, o al contrario, tumores malignos que no presentan suficientes signos de alteración nuclear como el *adenocarcinoma de los sacos anales*¹².

Por tanto, nunca se debe descartar la posibilidad de malignidad tumoral, aun cuando no se presenten signos de malignidad o éstos no sean suficientes para ser diagnosticados. Se debe realizar el seguimiento del paciente, su sintomatología y evolución, prestar atención a signos paraneoplásicos y alteraciones sanguíneas, repetir la citología y en caso dudoso o existencia de células sospechosas, realizar una histopatología^{1,3,4}.

Tumores de estirpe conjuntivo

Fibroma/sarcoma.
Lipoma/sarcoma.
Condrocitoma/sarcoma y osteocitoma/sarcoma, de origen óseo
Hemangioma/sarcoma y hemangiofibroblastoma, origen vascular.
Leiomiorrhabdoma/sarcoma.
Rhabdomioma/sarcoma.
Myxoma/sarcoma.
Schwanoma.
Histiocitoma fibroso maligno.

Tabla 4. Población noble

Descripción de las neoplasias de las distintas estirpes celulares:

Después de las generalidades de cada estirpe, se describen tumores de frecuente presentación y aquellos que se alejan del patrón típico y mostrando otras características propias.

-*Neoplasias de origen mesenquimatoso*^{5,7}:

La estirpe conjuntiva incluye una amplia variedad de células que aunque mantienen un patrón general de estirpe, la gran cantidad de tumores de origen conjuntivo y la posibilidad de ser anaplásicos o pobemente diferenciados alejándose del patrón general, hace difícil su identificación, siendo el límite citológico su denominación como estirpe conjuntiva junto con la descripción de los criterios de malignidad observados. (**Tabla 4**).

En general exfolian en escasa cantidad porque están incluidos en una densa matriz extracelular eosinofílica (colágeno) que suele estar presente, tienen un tamaño pequeño / mediano, una morfología típica fusiforme o estrellada, citoplasma azul pálido y alargado en ambos polos, que puede presentar pequeñas vacuolas o contenido amorfo, cromatina finamente reticulada y detectarse o no nucleolos^{2,7,13}.

En los tumores malignos, sarcomas, abundan células inmaduras neoplásicas, y se detectan numerosos criterios de malignidad: macrocitosis y anisocariosis, incremento del índice N:C, nucleolos grandes y prominentes, frecuentes mitosis, patrón de cromatina condensada, basofilia en citoplasma (Fig. 9 y 11). En los poco diferenciados pueden perder su morfología y características conjuntivas, aparecer formando clusters y es difícil diferenciarlas de las células epiteliales^{2,14}.

Hay que tener precaución con la interpretación de muestras donde existen procesos de inflamación o granulación y cicatrización, con participación de fibroblastos activos, que al ser células inmaduras pueden mimetizar una neoplasia^{2,7,13,14}.

• **Lipomas**⁷: Son tumores benignos de células grasas, adipocitos, con apariencia característica de células voluminosas, donde una gran vacuola clara desplaza el núcleo picnótico y aplastado, a veces no visible, a la periferia. Se muestran agru-



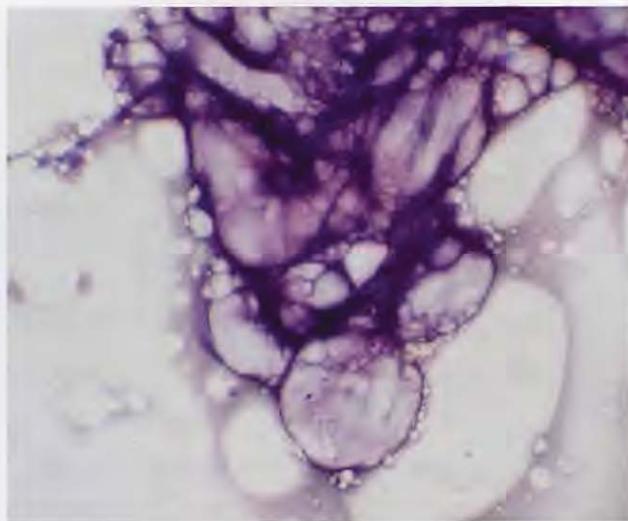


Figura 14. Lipoma cutáneo con voluminosas células grasas.

padas y con borde citoplasmático fino. El procesado con metanol hace que la célula grasa se disuelva y adquiera esta apariencia de voluminosas vacuolas vacías. (Fig. 14).

- **Liposarcomas^{2,7,12,14}:** Presentan alta celularidad formando voluminosos clusters, con núcleo grande, pudiendo existir multinucleación, nucleolos prominentes, anisocariosis, patrón de cromatina condensada, citoplasma pálido con bordes indiferenciados y múltiples vacuolas lipídicas.

- **Fibrosarcomas^{7,12}:** Tienen las características generales de tumores conjuntivos, así su diagnóstico definitivo debe apoyarse en la histopatología. Pueden aparecer ulcerados y con focos de inflamación, su comportamiento agresivo guarda relación directa con el elevado número de criterios de malignidad nuclear. (Fig. 10). Los fibrosarcomas asociados a vacunas en la especie felina (Fig. 8), de carácter agresivo, muestran una relación conjunta con una población de base inflamatoria y fagocitaria, con células gigantes multinucleadas y macrófagos, que tienen implicación en el desarrollo de la neoplasia^{2,15}. Las células originarias de estos tumores parecen ser los fibroblastos y mioblastos que participan en la respuesta inflamatoria crónica producida en el sitio de inoculación de la vacuna. El fibrosarcoma es el tipo de tumor que más comúnmente se desarrolla, pero también están descritos otros sarcomas como histiocitoma fibroso maligno, osteosarcoma, fibrosarcoma miofibroblástico, rhabdomiosarcoma y sarcomas indiferenciados¹⁶.

- **Condrosarcomas y osteosarcomas^{2,17}:** Los condroblastos y osteoblastos tienen morfología ovalada o fusiforme con intensa basofilia citoplasmática y fina cromatina, los osteoblastos con núcleo excéntrico dan un aspecto de células plasmáticas. Son células grandes, se presentan agrupadas o de forma individual, el citoplasma es muy basófilo porque contienen un retículo endoplasmático rugoso muy desarrollado, pueden contener granulaciones azurófilas. Generalmente se acompañan de una matriz amorfía acidófila intercelular. Los condrosarcomas y osteosarcomas muestran anisocariosis, macrocariosis, grandes nucleolos (Fig. 15) y es común la pre-

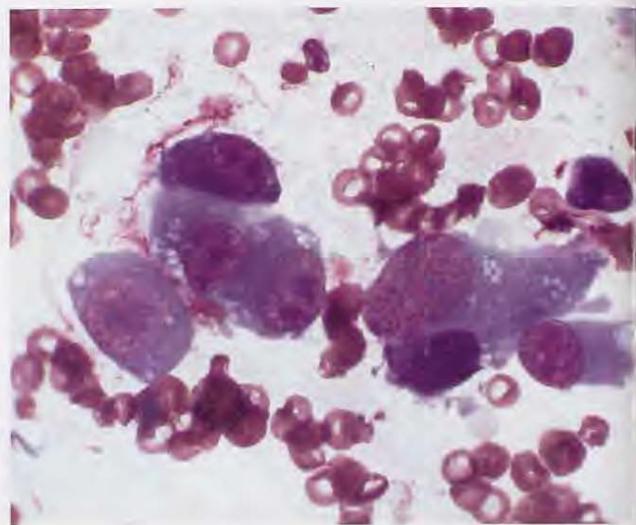


Figura 15. Condroblastos de gran tamaño con anisocariosis, nucleolos prominentes e intensa basofilia citoplasmática.

sencia de osteoclastos y células multinucleadas gigantes, con actividad fagocitaria.

- **Histiocitoma fibroso maligno^{2,7,14}:** Poco frecuente, con mayor representación en gatos; la citología muestra elevada celularidad y pleomorfismo, combina células conjuntivas con células redondas, en citoplasma aparecen pequeñas vacuolas junto con células gigantes multinucleadas.

- **Hemangiopericitoma^{7,12,14}:** Procede de las células de la superficie de capilares y vénulas, los pericitos⁸, consideradas como células de reserva. Se acompañan de una gran cantidad de neutrófilos marginales y población linfoide. Muestran núcleo grande ovalado, nucleolos visibles y citoplasma pálido con bordes poco definidos y pequeñas vacuolas.

- **Neoplasias de origen epitelial:** Procedentes de epitelio glandular y no glandular. Al igual que en el resto de los tumores, la existencia conjunta de procesos inflamatorios provoca cambios displásicos en las células epiteliales que pueden aparecer como neoplásicas; en estos casos, hay que tener gran precaución al interpretar la muestra y en caso dudoso realizar un examen histopatológico¹. En general aparecen como células de gran tamaño, con núcleo ovalado y bordes citoplasmáticos definidos, distribuidos en agrupaciones con alto número de células que pueden solaparse o mostrarse individuales y mostrar numerosos signos de alteración nuclear y nucleolar cuanto más malignos son.

- **Epitelio glandular¹⁴:** Presentan vacuolas citoplasmáticas secretoras de distinto tamaño y número. Se incluyen tumores de glándula mamaria, salival, sudorípara, sebácea, conducto auditivo, perianales y sacos anales. El término adenoma hace referencia a tumores benignos, y adenocarcinoma si son malignos.

- **Adenomas¹⁴:** Presentan alta celularidad con solapamiento entre las células de los clusters, pueden observarse formaciones acinares típicas, núcleo excéntrico y citoplasma vacuolizado y más o menos basófilo.

- **Adenocarcinomas^{1,13,14}:** Aparecen mostrando un alto número de criterios de malignidad, sobre todo nucleares,

citoplasmáticos y de población, y guardando una alta correlación con el diagnóstico de neoplasia maligna. Es frecuente la observación de células en acinis y en forma de "anillo de sello" (Fig. 13 y 12), con el núcleo totalmente desplazado a la periferia por una gran vacuola secretora citoplasmática.

• **Glándulas perianales**^{2,4,12-14}: Muestran células de apariencia "hepatoide" característica, con núcleo ovoide/redondo con nucleolos visibles a veces, bajo índice N:C y citoplasma con pálida basofilia finamente granulado. Pueden verse acompañadas de una población de células epiteliales llamadas de "reserva" de menor tamaño y mayor relación N:C, por lo que hay que evitar establecer erróneos criterios de malignidad al compararlas con la población glandular. La mayoría de las ocasiones los tumores de glándulas perianales corresponden con adenomas, aunque la diferencia entre *adenoma* y *adenocarcinoma* bien diferenciado es difícil de establecer por citología. Sin embargo, se describe una mayor presencia de *adenomas* en machos enteros (Fig. 16) y de *adenocarcinomas*, aunque son menos frecuentes, en machos castrados y en hembras.

• **Sacos anales**^{13,14}: A diferencia del anterior, hay una mayor presentación en forma de *adenocarcinomas*. Muestran una pérdida de definición citoplasmática que hace que adquieran aspecto de células de tipo endocrino, formando grupos celulares con núcleo desnudo, sin bordes citoplasmáticos definidos entre las células. En este caso, la ausencia de criterios de malignidad y apariencia de benignidad hacen que el diagnóstico se realice a través de histopatología.

• **Glándulas sebáceas**^{7,12}: Es común la forma de *adenoma sebáceo* y es característica la descripción de un citoplasma claro apolillado, con muchas y pequeñas vacuolas que rodean a un núcleo pequeño y central (Fig. 17). Aparecen en clusters en disposición acinar o en sábana.

• **Glándula mamaria**¹⁹: Los tumores mamarios son de presentación frecuentes en la especie canina y felina (50% del total en caninos, de los que el 40% son malignos, y ocupan el tercer puesto en felinos, de los que es maligno más

del 80% y la mayor parte adenocarcinomas). Pueden hallarse adenocarcinomas y carcinomas no glandulares simples o complejos, carcinomas de células escamosas y tumores conjuntivos, aunque éstos con menor frecuencia, como fibrosarcomas, liposarcomas y osteosarcomas, entre otros. La citología de la glándula mamaria debe ser sólo orientativa. En la misma muestra es posible encontrar células conjuntivas, dando un patrón mixto, o células inflamatorias, causantes de signos de displasia. Esta heterogeneidad hace que la citología sea complicada y los resultados obtenidos muestren tanto falsos positivos como negativos. Por ello, hay que realizar un estudio histopatológico para confirmar el diagnóstico de neoplasia y el grado de invasión del estroma. Sin embargo, la existencia de numerosos signos de malignidad (anisocariosis marcada, núcleos gigantes, multinucleación, numerosas mitosis, alto número, tamaño y prominencia nucleolar con formas aberrantes, pleomorfismo...) hace posible establecer una estrecha correlación con el diagnóstico de neoplasia maligna (Fig. 18).

-**Epitelio no glandular**⁷: Corresponde a células de revestimiento: células basales, escamosas y queratinocitos. Su presencia varía en función de la profundidad del sustrato. De carácter benigno son los *papilomas*, *basaliomas* y *queroacantomas*, y maligno los *carcinomas de células escamosas*.

• **Papilomas**¹²: Están formados por células escamosas maduras. Son de naturaleza benigna y presentan las características típicas de estirpe. Es difícil diferenciarlas de las células de epitelio escamoso normal, aunque puede observarse un aumento de la basofilia citoplasmática y del índice N:C⁷, y distintos grados de maduración pero con predominio de células adultas. En animales jóvenes suelen presentarse en mucosa oral, son de fácil diseminación y tienen un origen vírico, papovavirus. En animales seniles aparecen solitarios en cabeza y extremidades.

• **Basalioma**^{7,12,14}: Proceden de estratos inferiores y tienen carácter benigno. Son células pequeñas uniformes con cito-



Figura 16. Adenoma de glándula perianal. Cluster de células epiteliales con apariencia benigna.

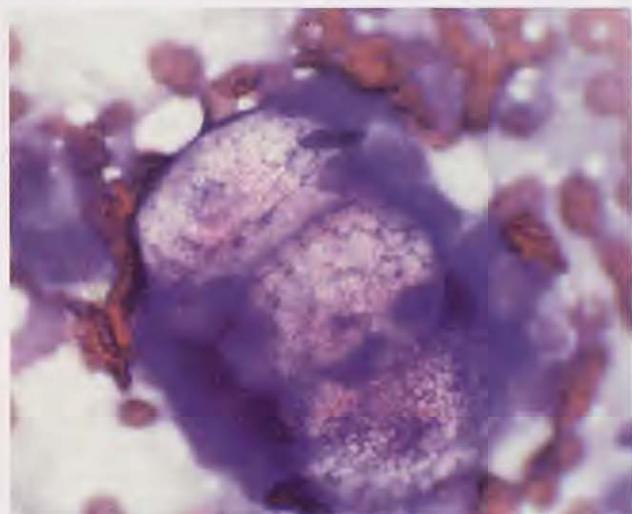


Figura 17. Agregado de células sebáceas con múltiples y pequeñas vacuolas citoplasmáticas.



Figura 18. Adenocarcinoma mamario en perra que muestra anisocariosis, prominencia nucleolar y mitosis atípica.

plasma basófilo que puede contener pigmentos, con bordes redondeados, bien definidos y relación N:C elevada. Es común encontrarlas alineadas formando hileras de células características².

- **Queroacantomas**^{12,14}: Son benignos, y se originan en estratos muy superficiales. Están formados por abundantes queratinocitos con núcleo picnótico, células anucleadas, restos de queratina y cristales de colesterol planos, rectangulares y transparentes².

- **Cáncer de células escamosas**^{3,7,12,14}: Son de carácter maligno, muestran un epitelio escamoso displásico con distintos niveles de maduración y diferenciación celular, que guardan relación inversa con el índice de malignidad. Suelen acompañarse de una población inflamatoria purulenta con neutrófilos degenerados y bacterias, por estar fácilmente ulcerados. En los bien diferenciados, las células se disponen en pequeños clusters queratinizados o de forma individual, con citoplasma abundante, bordes angulosos, relación N:C baja con núcleo picnótico o anucleado. En los poco diferenciados, existe un mayor pleomorfismo, incremento del índice N:C, con citoplasma más basófilo y bordes redondeados, los clusters muestran anisocitosis, anisocariosis, nucleolos prominentes e irregulares, vacuolización perinuclear típica y patrón de cromatina condensada. También es posible encontrar maduración asincrónica nucleocitoplasmática en células con núcleo grande no picnótico y citoplasma abundante con bordes angulosos.

- **Neoplasias de células redondas**^{7,13,14}: Incluyen mastocitomas, histiocitomas, tumor venéreo transmisible (TVT), linfomas y plasmocitomas. Dentro del patrón general muestran una morfología redonda o con escotadura en el núcleo, alta celularidad y dispuestas como células individuales porque no presentan uniones intercelulares. Tienen pequeño volumen, aunque con diferencias en las distintas líneas y bordes citoplasmáticos bien definidos. Los criterios de malignidad varían ampliamente dentro de cada categoría, además de presentar otras características propias que ayudan a identificarlos.

- **Mastocitomas**: Poseen granulaciones citoplasmáticas

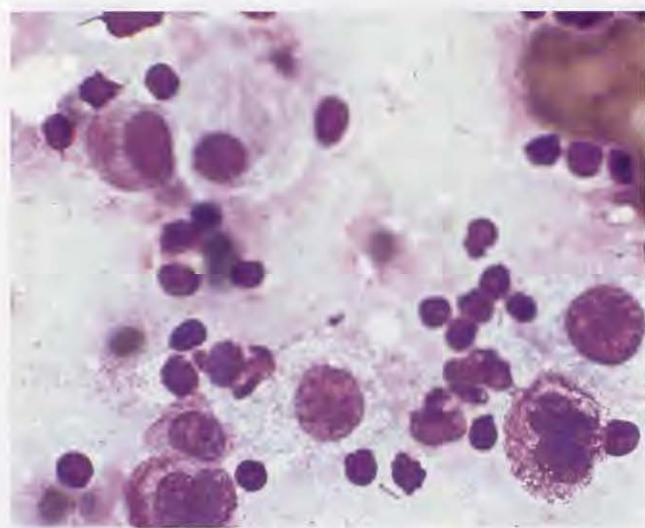


Figura 19. Mastocitoma canino de grado II con binucleación, pleomorfismo leve y granulación intermedia.

rojo púrpura que, al romperse los mastocitos, quedan libres en el fondo de la preparación. Tienen un núcleo o redondo central con apariencia pálida por la intensa afinidad a la tinción del citoplasma granulado⁷. En la especie canina, a través de histopatología se clasifican en grados I, II y III, en función del nivel de diferenciación celular, criterios de malignidad y evaluación del estroma; sin embargo, en la especie felina, esta graduación histopatológica no guarda relación con el pronóstico¹². La citología, en cierta medida, puede indicar el grado de diferenciación celular pero no puede establecer el comportamiento biológico²⁰. Los bien diferenciados o de grado I son de carácter benigno, formados por una población homogénea, con abundantes granulaciones que a veces ocultan el núcleo, acompañados por un infiltrado de eosinófilos. Los de grado II o intermedios muestran pleomorfismo celular moderado y menor cantidad de eosinófilos² (Fig 19). Los peor diferenciados y más anaplásicos de grado III tienen escasas granulaciones, nucleolos prominentes, alto pleomorfismo y anisocariosis, binucleación, frecuentes mitosis y variación en el índice N:C^{7,14}.

Independientemente del grado, los mastocitomas deben ser considerados como potencialmente malignos, así debe practicarse su exérésis y análisis histopatológico⁷, y establecen el grado y valoración de los márgenes quirúrgicos.

No siempre es posible teñir las granulaciones con tinciones rápidas del tipo Diff-Quick, lo que hace que puedan confundirse con células linfoides, macrófagos o células epiteliales⁷, así que pueden usarse otras tinciones como May-Grünwald-Giemsa o Azul de Toluidina^{12,14}.

- **Histiocitomas**^{2,7,12-14}: Muestran un comportamiento benigno y mayor predisposición a aparecer en animales jóvenes. Tienen núcleo redondo o arriñonado, cromatina uniforme finamente reticulada, presentan binucleación y frecuentes mitosis, sin considerarse signos de malignidad en este tumor. El citoplasma es azul pálido, a veces con un borde más basófilo y pueden presentar anisocitosis y anisocariosis. En los histiocitomas es común la regresión espontánea, y se relaciona con un infiltrado de linfocitos adultos presentes en la mues-

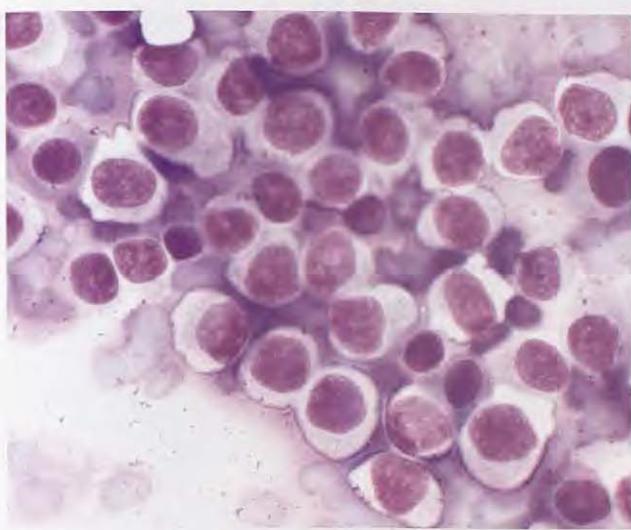


Figura 20. Histiocitoma en extremidad anterior en bulldog de 6 meses.

tra^{2,12,13} (Fig 20).

- **Tumor venéreo transmisible (TVT)**^{2,7,12-14}: Exfolian fácilmente y muestran una población monomórfica. Son células de tamaño grande, citoplasma abundante con suave basofilia, bordes bien definidos con múltiples y pequeñas vacuolas. El núcleo es redondo, grande, con patrón de cromatina engrosada y nucleolos visibles. Se acompañan de una población inflamatoria con linfocitos, células plasmáticas y macrófagos, y a menudo existe una implicación bacteriana por infección 2º. Pueden detectarse mitosis en las extensiones y aunque las metástasis son raras, el índice de recurrencia es alto después de su eliminación quirúrgica¹². (Fig 21).

- **Linfoma cutáneo epiteliotropo o micosis fungoide**^{12,14,22}: Representa la proliferación de una población clonal neoplásica de linfocitos T que infiltran epidermis²¹. Presentan núcleo polimórfico, cromatina finamente reticulada, con mayor

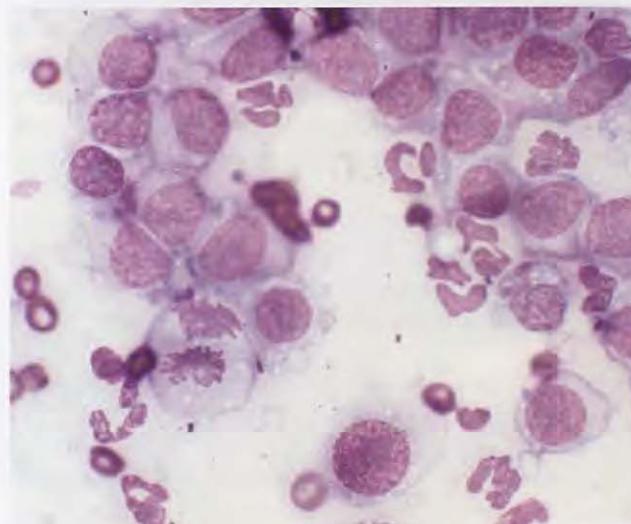


Figura 21. TVT en mucosa vaginal de perra. Población de células redondas homogénea y mitosis junto con neutrófilos.

basofilia en las células pequeñas, alto índice N:C, los nucleolos no son visibles aunque a veces pueden llegar a ser prominentes, el citoplasma es escaso y pálido. En el fondo de la preparación aparecen cuerpos linfoglandulares, muy comunes de observar en la población linfoidé, que corresponden a restos de material nuclear y ayudan a su diagnóstico, aunque la confirmación debe realizarse por histopatología.

- **Plasmocitomas**^{7,13,14,21}: Son neoplasias cutáneas de células plasmáticas. Tienen elevado pleomorfismo, núcleo redondo y excéntrico, cromatina basófila muy condensada, alto índice N:C, se observa bi o multinucleación frecuente, citoplasma igualmente basófilo con una zona clara perinuclear, *aparato de Golgi*, que puede no estar presente. Suelen ser benignos, aunque algunos pueden tener comportamiento maligno y metastatizar. Es posible que aparezca un infiltrado de eosinófilos y células gigantes multinucleadas, asociado a un mayor riesgo de recurrencia.

- **Melanomas**: No se incluyen en ninguna de las estirpes anteriores por poder aparecer de forma pleomórfica y adoptar una apariencia tanto epitelioide o fusiforme como de células redondas, que incluso pueden observarse en el mismo tumor, tanto en los benignos como malignos¹². Los melanocitos se presentan individuales o en pequeñas agrupaciones. Los bien diferenciados contienen abundantes pigmentos de melanina pequeños y finos, de tinción marrón, negra o verde oscura, y pueden cubrir citoplasma y núcleo, que es pequeño y uniforme (Fig. 22). Los poco diferenciados presentan un bajo grado de pigmentación, además de anisocariosis, anisocitosis, nucleolos prominentes y cromatina engrosada y generalmente deben ser relacionados con una neoplasia maligna^{3,12}. Sin embargo, el grado de diferenciación celular en los melanomas puede resultar engañoso y no debe realizarse sólo a través de la citología⁷. Suelen acompañarse de *melanófagos*, macrófagos de melanina, que se diferencian de los melanocitos por el mayor tamaño de sus vacuolas fagocita-

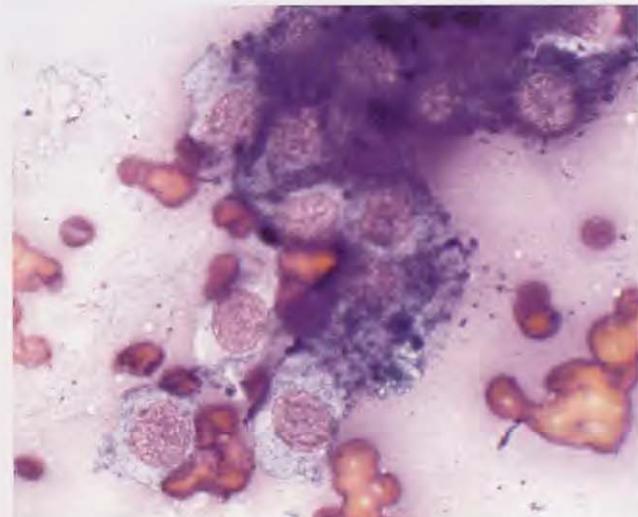


Figura 22. Melanoma cutáneo canino en abdomen con abundantes pigmentos de melanina que no muestra criterios de malignidad.

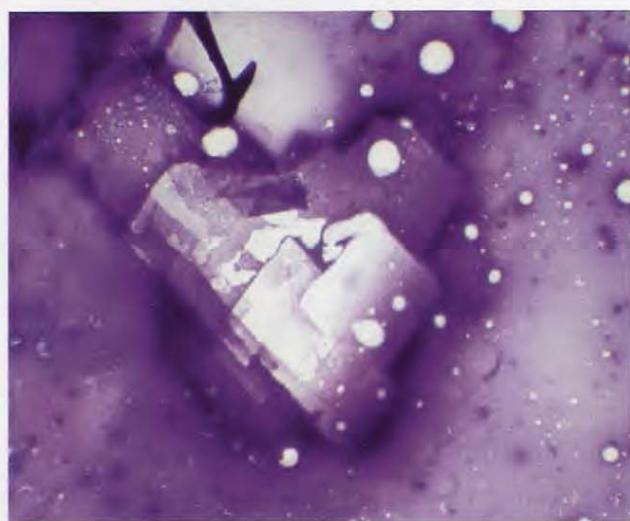


Figura 23. Cristales de colesterol con formas rectangulares de gran tamaño en un quiste cutáneo.

rias y cuya presencia es un signo indirecto que ayuda a la identificación de los melanomas amelánicos. También existen tinciones específicas, como la tinción de Fontana, para detectar sus granulaciones¹².

Además de los caracteres de malignidad generales en los melanomas el sitio de procedencia guarda relación con su comportamiento benigno o maligno. Así en cavidad oral, labios y base de las uñas tiene peor pronóstico, mientras que si provienen de piel suelen ser benignos¹².

-Lesiones no inflamatorias: Se incluyen quistes epidérmicos y hematomas además de seromas e higromas.

-Quistes epidérmicos^{2,12}: Externamente contienen una sustancia pastosa grisácea. La citología revela un fondo de matriz amorfa acelular y restos abundantes de queratina, la degradación de células en el interior del quiste puede dar lugar a la formación de cristales de colesterol, estructuras grandes, transparentes y en forma de lámina rectangular (Fig. 23). La ruptura de la pared quística puede provocar una reacción de cuerpo extraño, evolucionando en este caso hacia una lesión piogranulomatosa con participación de eosinófilos.

-Hematomas^{2,5,7}: Están formados por una colección de sangre, con ausencia de plaquetas, junto con neutrófilos, linfocitos y macrófagos (que poco tiempo después mostrarán eritrofagocitosis (Fig. 24)), vacuolas con pigmentos de hemosiderina, y es posible la presencia de cristales de hematoidina dorados y con morfología romboide, productos de degradación del metabolismo de la hemoglobina. Por tanto, su

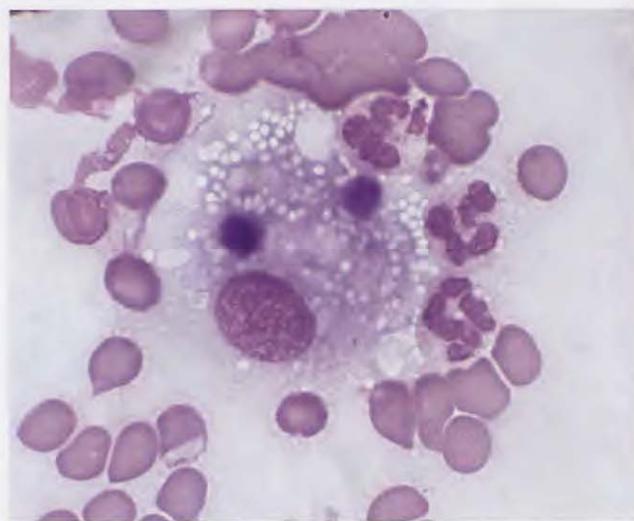


Figura 24. Macrófago mostrando eritrofagocitosis en una hemorragia antigua.

hallazgo ayuda a evaluar la cronicidad del sangrado. La existencia de plaquetas indica una hemorragia reciente anterior al aspirado o contaminación por sangre circulante.

-Higromas y seromas^{2,7}: Compuestos por líquido ambarino aséptico, claro, de baja celularidad, donde pueden observarse macrófagos con citoplasma abundante, vacuolizado y núcleo excéntrico, neutrófilos no degenerados en escasa cantidad y algunas células epiteliales de revestimiento

Conclusión:

El objetivo de la citología es la detección de anomalidades celulares en el nivel microscópico, diferenciando procesos fisiológicos de los patológicos y clasificando a éstos últimos como inflamatorios, no inflamatorios y/o neoplásicos.

Es cierto que la citología tiene sus limitaciones al considerar sólo las células de la zona recogida y no la totalidad de la lesión, además en el diagnóstico de las neoplasias no se puede determinar el grado de infiltración vascular y es difícil especificar, sobre todo en los sarcomas y tumores poco diferenciados, la variedad celular a la que pertenece esa estirpe. Es por todo esto que debe estudiarse junto con el resto de las pruebas realizadas e historial del paciente. A pesar de ello, son sus ventajas (versatilidad, fácil manejo, mínima invasión y dolor, rapidez, bajo coste e información obtenida), las que hacen de la citología una técnica realmente valiosa y de gran apoyo en el diagnóstico veterinario.

Title**Veterinary cutaneous cytology****Summary**

Cytologic evaluation is used with increasing frequency and prestige as a diagnostic test (and is nowadays included in professional publications, papers, scientific presentations, etc.), and is being used as a routine clinical procedure in many countries. Preparations can be evaluated quickly and give the information required by the veterinarian in order to establish treatment, and is an easy, cheap, painless and versatile procedure because all the cells of the body can be evaluated in this manner. Cytology is a practical and effective diagnostic tool.

Cytology is commonly used for dermatologic diagnosis because of the high incidence of lesions of the skin and subcutis. It helps to establish a first diagnostic approach, and definitive sometimes, thus reducing the number of differentials, time and costs. This paper focuses on skin histopathology, and will discuss the proper way of obtaining specimens, the cell types we can find, and the most frequent associated conditions.

Key words: Cutaneous cytology. Inflammatory and non-inflammatory lesions. Neoplasia.

Bibliografía

- 1.-CJ, Morton RJ: Introducción. En Cowell RL, Tyler RD Menikoth JH: Diagnostic cytology and hematology of the dog and cat. San Luis, Mosby, 1999; 1-19.
- 2.-Thrall MA: Cytologic examination of cutaneous and subcutaneous lumps and lesions. *Veterinary Medicine* 2000; 95(3): 224-241.
- 3.-Fournel-Fleury, C; Magnol, J.P; Guelfi, J.F: General principles of methodology and interpretation in cancer cytology. En Colour atlas of cancer cytology of the dog and cat. Conférence Nationale des Vétérinaires Spécialisés en Petits Animaux. París, 1994; 19-34.
- 4.-Clinkenbear KD, Cowell RL: Características citológicas de las neoplasias malignas. *Waltham Focus* 1994; 4 (3): 2-8.
- 5.- Mills J: Diagnóstico citológico. *Pequeños animales* 1999; 20: 43-50.
- 6.-Menard M, Papageorges M: Fine needle biopsies: How to increase diagnostic yield. *Comp.Cont.Ed.Pract.Vet* 1997; 19: 738-740.
- 7.-Cowell RL, Tyler RD, Menikoth JH: Cutaneous and subcutaneous lesion. En Cowell, RL, Tyler RD, Menikoth JH: Diagnostic cytology and hematology of the dog and cat. San Luis, Mosby, 1999; 20-51.
- 8.-Dellmann HD, Carithers JA: Tejido conectivo. En Dellmann HD, Carithers JA: Citología e Histología. Intermédica 1999; 87-109.
- 9.-Cotran RS, Kumar V, Collins T: Patología celular I: Lesión y muerte celulares. En Robbins: Patología estructural y funcional. 6^a Ed. Mac Graw-Hills 2000; 1-31.
- 10.-Cotran R.S, Kumar V, Collins T: Neoplasias. En Robbins: Patología estructural y funcional. 6^a Ed. Mac Graw-Hills 2000; 277-347.
- 11.-Martínez E: Citología Oncológica. En Curso de Citología Clínica en pequeños animales. Dpto.Pat.Animal II (Facultad de Vet. UCM) y AMVAC 2000; 7-13.
- 12.-Raskin R.: Skin and subcutaneous tissues. En Raskin RE, Meyer DJ: Atlas of canine and feline cytology. Philadelphia, WB Saunders Company 2001; 35-92.
- 13.-Alleman R, Bein P: Diagnosing neoplasia: The cytologic criteria for malignancy. *Veterinary Medicine* 2000; 95(3): 204-223.
- 14.-Fournel-Fleury C, Magnol JP, Guelfi JF: Skin and superficial soft tissue tumors. En Fournel-Fleury, C. et al.: Colour atlas of cancer cytology of the dog and cat. Conférence Nationale des Vétérinaires Spécialisés en Petits Animaux. París, 1994; 159-174.
- 15.-Macy DW, Hendrick MJ: The potential role of inflammation in the development of postvaccinal sarcomas in cats. *Vet.Clin.North Am.Small Anim Pract* 1996; 26 (1): 103-109.
- 16.-Morrison WB: Environmental causes of naturally occurring cancer in dogs and cats. En Morrison WB: Cancer in dogs and cats: Medical and surgical management. Williams & Wilkins, Waverly Company 1998; 31-41.
- 17.-Mahaffey EA: Cytology of the musculoskeletal system. En Cowell RL, Tyler RD, Menikoth JH: Diagnostic cytology and hematology of the dog and cat. San Luis, Mosby 1999; 120-123.
- 18.-Dellmann HD, Carithers JA.: Cartílago y hueso. En Citología e Histología. Intermédica 1999; 111-135.
- 19.-Kristin LH: Reproductive system. En Raskin RE, Meyer DJ: Atlas of canine and feline cytology. Philadelphia, WB Saunders Company 2001; 277-312.
- 20.-Martínez E: Mastocitoma cutáneo canino. *Profesión Veterinaria* 2000; 47: 6-13.
- 21.-Day MJ, Dobson JM: Tumores del sistema inmunitario. En Day MJ: Atlas en color de enfermedades inmunomedidas del perro y el gato (vol.2). Ed Grass, 1999; 216-242.
- 22.-Foster, Evans, Kerlin et al.: Cutaneous T-cell lymphoma with Sézary syndrome in a dog. *Vet Clin.Path* 1997; 26:188-192.