

ESTUDIO CLÍNICO, HISTOPATOLÓGICO E HISTOQUÍMICO DEL MELANOMA CUTÁNEO EN CABALLOS (*Equus ferus caballus*) DEL DEPARTAMENTO DE CÓRDOBA, COLOMBIA

*Clinical, Histopathological and Histochemical Evaluation of Cutaneous Melanoma in Horses (*Equus ferus caballus*) of Córdoba Department, Colombia*

José A. Cardona Á.^{*1}, Marlene I. Vargas V.^{**} y Jhonny A. Buitrago M.^{***}

^{*}Medicina y Clínica de Grandes Animales, Grupo de Investigación en Medicina de Grandes Animales (MEGA), Departamento de Ciencias Pecuarias, Universidad de Córdoba, Montería, Colombia. ^{**}Laboratorio de Patología Animal, Departamento de Medicina Veterinaria, Universidad Federal de Viçosa, Viçosa, Brasil. ^{***}Universidad de Córdoba, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Programa de Maestría en Ciencias Veterinarias del Trópico, Grupo de Investigación en Medicina de Grandes Animales (MEGA), Montería, Colombia

Correo-E: cardonalvarez@hotmail.com

Recibido: 25/02/16 - Aprobado: 23/06/16

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue estudiar los aspectos clínicos, histopatológicos e histoquímicos del melanoma cutáneo (MC) en caballos (*Equus ferus caballus*) del Departamento de Córdoba, Colombia. Dicho estudio fue de tipo descriptivo, no probabilístico, en caballos de conveniencia. Se utilizaron 24 caballos provenientes de diferentes explotaciones ganaderas, con diagnóstico clínico e histopatológico de MC. Al describir las lesiones, se observaron masas nodulares infiltrativas o con apariencia de placas, de tamaños variados, de consistencia firme, exofíticas, pigmentadas, alopecicas y, en algunos casos, con ulceraciones en la piel. Sin embargo, los tejidos adyacentes (óseos o musculares) no fueron invadidos por las lesiones. Las lesiones estaban localizadas en la superficie ventral de la cola, regiones perianal, perineal, genital (vulva, prepucio y pene), cuello, párpados y comisuras labiales de los animales estudiados. El análisis histopatológico con la coloración de hematoxilina-eosina, reveló la presencia de células de tamaño variable; así mismo, los núcleos diferían entre las células y se observaron figuras mitóticas. El tipo celular más observado fueron las células epitelioides, pleomórficas y redondas. Las áreas tumorales estaban difusamente definidas y

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the clinical, histological, and histochemical aspects of cutaneous melanoma (CM) in convenience horses (*Equus ferus caballus*) of the Department of Córdoba, Colombia. The study was descriptive, non-probabilistic. A total of 24 horses from different farms, with clinical and histopathologic diagnosis of MC, were used. In describing the lesions, infiltrating or plate-appearance, firm, exophytic, pigmented, and alopecic tumor masses, were observed and; in some cases, skin ulcerations were seen. However, the adjacent tissues (bone or muscle) were not invaded by injuries. The lesions were located in the ventral surface of the tail, the perianal, perineal, and genital regions (vulva, foreskin, and penis), neck, eyelids, and labial commissures of the animals studied. Histological examination with hematoxylin staining-eosin revealed the presence of cells of variable size; similarly, the nuclei were different between cells and mitotic figures were observed. Most of the observed cell types were: epithelioid, pleomorphic, and round cells. Tumor areas were vaguely defined and highly pigmented, showing the presence of large amounts of grouped atypical melanocytes (in nests or teak). With trichrome Gomori staining, poor dermal proliferation of disorganized collagen was

¹ A quien debe dirigirse la correspondencia (To whom correspondence should be addressed)

fuertemente pigmentadas, observándose la presencia de grandes cantidades de melanocitos atípicos agrupados (en nidos o tecas). Con la coloración de tricrómico de Gomori, se observó escasa proliferación dérmica de colágeno desorganizado, con escasa presencia de tejido conjuntivo difuso, mientras que, con la técnica de microscopía de polarización, utilizando la coloración de rojo picrosirius, se observaron áreas de birrefringencia rojiza, indicando moderada presencia de colágeno maduro tipo I (color rojo brillante en la polarización). El diagnóstico definitivo de la enfermedad, se fundamentó en las características clínicas, el diagnóstico diferencial y los hallazgos histopatológicos, siendo concluyentes como métodos de diagnóstico del MC, constituyendo el primer reporte de esta enfermedad en caballos del Departamento de Córdoba de Colombia.

(Palabras clave: MC, melanocítico, tumor, melanina, equinos)

INTRODUCCIÓN

Los problemas dermatológicos pueden provocar dolor, irritación, prurito y predisposición a infecciones secundarias que comprometen el normal desempeño del animal, pudiendo llevar a grandes pérdidas económicas, debido a los gastos de tratamiento o descarte de animales, además de ser un problema estético, por lo que se convierte en una de las quejas más frecuentes por los Médicos Veterinarios que trabajan con equinos [1].

Brum *et al.* [2] indican que el 4,1% de los caballos examinados presentan algún problema dermatológico, siendo la piel el órgano donde más casos de neoplasias ocurren, llegando a constituir aproximadamente el 50% de los casos. Entre las neoplasias más frecuentes se encuentran el sarcoide, el melanoma y el carcinoma de células escamosas, por lo que el melanoma es considerado el segundo tipo de tumor cutáneo más común después del sarcoide, representando del 5 al 14% de las neoplasias cutáneas en equinos [3, 4].

El melanoma cutáneo (MC), también llamado melanosarcoma, melanocitoma, melanososis o melanomatosis, dependiendo del curso clínico y del carácter benigno o maligno de la condición, es una

observed, with scarce presence of diffuse connective tissue, whereas with the polarization microscopy technique, which uses picrosirius red staining, areas of red birefringence were observed, indicating moderate presence of mature type I collagen (bright red color in polarization). The definitive diagnosis of MC was based on clinical features, differential diagnosis, and histopathologic findings. These were conclusive diagnostic methods for MC, becoming the first report of this disease in horses of the Cordoba Department, Colombia.

(Key words: CM, melanocytic, tumor, melanin, equines)

neoplasia de la piel originada por una alteración en el metabolismo de la melanina, lo que conlleva a la formación de nuevos melanoblastos, por acúmulo inadecuado de melanina en los melanófagos, quizás por una falla en la degradación de la melanina en la medida que el animal envejece y pierde pigmentación [3].

La etiología del MC es considerada incierta, ya que se presume la existencia de componentes de carácter multifactorial que pueden ir desde causas infecciosas (virales), inflamatorias, traumáticas, radiación ultravioleta (UV), hasta causas genéticas. Se sugiere que los melanocitos del folículo piloso y de la dermis tienen diferentes ciclos de vida [5]. Aunque es controversial el papel que podría desempeñar la exposición prolongada a las radiaciones UV, se postula como causa probable de melanoma debido a que la hormona estimulante de los α -melanocitos podría ser influenciado por las radiaciones solares, así las lesiones se ubiquen en regiones protegidas de la luz solar [6].

El MC se ubica principalmente en la superficie ventral de la cola, región perianal y perineal, genitales (vulva, prepucio y pene), cuello, orejas, párpados y comisuras labiales [7], aunque también se han hecho reportes de ubicación a nivel ocular, bolsas guturales,

esófago y alrededor del 60% progresan y hacen metástasis en sitios atípicos como ganglios linfáticos y órganos internos [8-10].

Macroscópicamente, el MC puede ser de características clínicas variables, dependiendo del tiempo, la localización del tumor y la evolución clínica. En general, los melanomas son masas nodulares infiltrativas o con apariencia de placas, de tamaños variados y firmes, que pueden o no ser pigmentadas, alopecias o ulceradas, dependiendo del tipo de melanoma en cuestión, siendo el tamaño un factor pronóstico importante, ya que tumores grandes son frecuentemente malignos, mientras que los de menor dimensión tienen mayor probabilidad de ser benignos. En algunos casos, pueden liberar una sustancia espesa y negra, por lo que al unirse los nódulos pueden presentar una apariencia irregular y rugosa [11]. El MC en los equinos, revela histológicamente rasgos severos de anaplasia, invasividad y anarquía, y su comportamiento clínico, no expresa la agresividad o malignidad clínica observada en melanomas, tal es el caso de la resistencia natural del caballo tordillo o gris que puede convivir con la neoplasia y morir de cualquier cosa menos de esa condición tumoral, por lo general de aspecto e histogénesis de malignidad absoluta. Microscópicamente, los melanomas presentan variación histológica, dependiendo del grado de malignidad. Los MC malignos (melanoma dérmico) se observa que el tamaño de las células y los núcleos difieren entre las células, y se observaron figuras mitóticas, siendo los tipos de células más comunes las epitelioideas pleomórficas y redondas, las áreas tumorales son difusamente definidas, y la pigmentación puede ir desde muy pigmentada a zonas amelanóticas, en algunos casos se aumenta la vascularización y linfocitos activados podrían observarse. En los MC anaplásicos la actividad mitótica es alta, así como la invasión linfática y vascular, las células tumorales a menudo tienen dos núcleos y son células poliédricas y epitelioideas principalmente pleomórficas, con presencia de algunas zonas amelanóticas [12].

El MC puede confundirse con otras lesiones cutáneas superficiales o profundas, por lo que se debe hacer el diagnóstico diferencial con el sarcoide fibroblástico [13], el carcinoma de células escamosas [14] y la pythiosis cutánea [15].

El objetivo de este trabajo fue realizar un estudio descriptivo sobre los aspectos clínicos, histopatológicos e histoquímicos del MC en caballos criollos del Departamento de Córdoba, Colombia.

MATERIALES Y MÉTODOS

Tipo de Estudio

Se realizó un estudio de tipo descriptivo, no probabilístico en animales de conveniencia con presencia de lesiones cutáneas compatibles con MC.

Localización

El estudio fue realizado en el Departamento de Córdoba, Colombia, ubicado entre las coordenadas 7°23' y 9°26' LN y 74°52' y 76°32' LO del meridiano de Greenwich, a una altura de 30 m.s.n.m., con temperatura promedio anual de 28°C, humedad relativa del 82%, precipitación media anual de 1400 mm, perteneciendo al región, con clima de bosque tropical lluvioso [16].

Animales

Se utilizaron 24 caballos criollos de color tordillo (gris), de ambos sexos (14 machos y 10 hembras), con edades comprendidas entre 8 y 16 años, los cuales presentaron lesiones en forma de masas nodulares infiltrativas o con apariencia de placas, de tamaños variados, de consistencia firme, exofítico, pigmentadas, alopecias y en algunos casos, con ulceraciones de la piel compatibles con MC.

Metodología

Los animales no estuvieron sometidos a dolor y/o estrés innecesarios, por lo que fueron inmovilizados teniendo en cuenta las normas técnicas en el manejo y sujeción de animales, enmarcadas en el cumplimiento de la Declaración Universal de los Derechos de los Animales, referente a los principios éticos internacionales para la investigación biomédica con animales del CIOMS (*Council for International Organizations of Medical Sciences*) establecida por la UNESCO (*United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization*) y la OMS (*Organización Mundial de la Salud*) de 1949 y de la Ley 84 de octubre 27 de 1989 (Estatuto Colombiano de Protección Animal) [17].

A todos los animales se les realizó evaluación clínica y caracterización anatomopatológica de las lesiones cutáneas, para lo cual se tomaron fotografías de alta definición para su posterior análisis (Sony DSC-HX10V, China). De igual forma, previa sedación (Xilacina 2%, Bayer®, Colombia) y aplicación de

anestesia local (Lidocaína 2%, Synthesis®, Colombia), se realizaron biopsias de tejido en el centro de la lesión tumoral con *punch* de 6 mm [12], se fijaron en formalina al 10% por 24 h, se colocaron después en alcohol al 70% y se llevaron al Laboratorio de Patología del Departamento de Ciencias Pecuarias de la Universidad de Córdoba, Colombia, donde fueron procesadas hasta su inclusión en parafina. Posteriormente, se trasladaron al Laboratorio de Patología del Departamento de Veterinaria de la Universidad Federal de Viçosa, Brasil, donde se procesaron para evaluación histopatológica e histoquímica, cortadas a 5 μ m de espesor en un micrótopo (Leica RM2125 RTS®, Japón) y coloreadas con Hematoxilina - Eosina (HE), Tricómico de Gomori (TG) y *Picrosirius Red/Polarization* (PR/P). Para el análisis foto microscópico de las muestras, se usó un microscopio con opción de polarización (*Olympus BX-53*®, Japón) del Laboratorio de Sistemática Molecular/BEAGLE del Departamento de Biología Animal de la Universidad Federal de Viçosa, Brasil.

La presencia de melanoma se evaluó mediante inspección y palpación en lugares de ubicación típica como región perianal, anal y perineal, y en sitios principales de ubicación atípica como cuello, orejas, párpados, comisuras labiales y región parotídea. Se utilizó el sistema de caracterización y cuantificación del melanoma de acuerdo con Moore *et al.* [18], los cuales sugirieron un sistema de gradación de 0 a 4, asumiendo el grado 0 para ausencia de melanomas, el grado 1 en las primeras etapas, poco visibles o con presencia de un único nódulo menor de 2 cm, grado 2 con presencia de varios nódulos de 2 cm, o con invasión al tejido subcutáneo, el grado 3 con presencia de nódulos menores de 4 cm y lesión extensa sin ulceración, con signos de destrucción y metástasis, y el grado 4 con presencia de nódulos mayores de 4 cm y crecimiento exofítico de tumores con superficie ulcerada y metástasis, en diversos órganos, acompañada de síndromes paraneoplásicos.

Con la coloración de HE, se evaluó la localización de las lesiones (entre dermis o dermis y epidermis, el tipo de células presentes (fusiforme, epitelioide o mixtas), observándose la presencia de ulceración, y cuantificándose el pigmento en 3 grados (escaso, moderado y abundante). De igual forma, en las coloraciones de TG y PR/P se cuantificó la presencia de fibras y tipo de colágeno en 3 grados (escaso, moderado y abundante). Para establecer el criterio

de malignidad fue utilizada la característica clínica de tamaño, grado de pigmentación y friabilidad de la lesión, así como histológicamente la presencia de tres o más figuras mitóticas por 10 campos de gran ampliación, siendo esto indicativo de malignidad según Smith *et al.* [19]. Se utilizó la prueba de Chi cuadrado con el fin de determinar diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre las variables (clínica, histopatología e histoquímica). El análisis estadístico fue realizado con el auxilio del programa S.A.S. 9.1.3 y para la tabulación y organización de los datos se utilizó el programa Microsoft Office Excel 2003.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las manifestaciones clínicas observadas, las características anatomopatológicas de las lesiones y los resultados histopatológicos, confirmaron el diagnóstico de MC en los 24 caballos tordillos estudiados de acuerdo con lo reportado como método diagnóstico [3, 4, 10, 12, 18, 19].

En el Cuadro 1, se describe la distribución de los animales estudiados según el sexo, edad, localización, tamaño y grados de las lesiones. Se observa que el 58,3% fueron machos y 41,7% fueron hembras. El 20,8% de los animales fue menor de 10 años y el 79,2% fue mayor de 10 años. Con respecto a la ubicación de las lesiones, el 66,6% tuvo una ubicación típica (superficie ventral de la cola, región perianal, anal y perineal), el 33,3% presentó ubicación atípica (cuello, orejas, párpados, comisuras labiales y región parotídea). Es importante resaltar que el 50,0% de los animales presentaron lesiones en diferentes partes del cuerpo tanto típicas como atípicas. De acuerdo con el tamaño, 37,5% fueron grandes (>4cm), el 50,0% fueron medianas (1 a 4 cm) y 12,5% fueron de tamaño pequeñas (<1cm). Los grados 3 y 4 fueron los más observados con 62,5%, mientras que los grados 1 y 2 se observaron en 37,5% de las lesiones.

Las manifestaciones clínicas de las lesiones cutáneas se caracterizaron por la presencia de masas nodulares infiltrativas, con apariencia de placas o con crecimiento exofítico y ulcerado, alopecicos, de tamaños variados, firmes y pigmentado (Figura 1), en la mayoría de los casos estudiados. Las lesiones se ubicaron a nivel de región perineal (Figura 2a), anal y perianal (Figura 2b), pene (Figura 2c), comisuras labiales (Figura 2d), mucosa oral (Figura 3a) y tabla del cuello (Figura 3b).

Cuadro 1. Distribución de las lesiones según el sexo, edad, localización, tamaño y grado en 24 equinos estudiados en el Departamento de Córdoba, Colombia

Sexo N° (%)	Edad (años) N° (%)		Localización N° (%)			Tamaño N° (%)			Grados * N° (%)				
	< 10	>10	Típica	Atípica	Ambos	Pequeños < 1 cm	Medianos 1 a 4 cm	Grandes > 4 cm	0	1	2	3	4
Machos 14 (58,3)	2	12	9	5	9	1	8	5	-	1	4	4	5
Hembra 10 (41,7)	3	7	7	3	3	2	4	4	-	2	2	2	4
Total	5 (20,8)	19 (79,2)	16 (66,6)	8 (33,3)	12 (50,0)	3 (12,5)	12 (50,0)	9 (37,5)	-	9 (37,5)		15 (62,5)	

*Clasificación de Moore *et al.* [18]

En todas las biopsias de tejido tumoral teñidas con la coloración de HE, se observaron características histopatológicas similares entre ellas, las cuales consistieron en la presencia de células de tamaño variable, con diferencia de núcleos entre ellas evidenciándose un número variable de figuras mitóticas. Las células observadas fueron de características epitelioides pleomórficas y redondas. Las áreas tumorales eran difusamente definidas, y fuertemente pigmentadas, observándose la presencia de grandes cantidades de melanocitos atípicos agrupados (en nidos o tecas), siendo clasificados como melanomas dérmicos, malignos (Figura 4). Con la coloración de TC, se observó escasa proliferación dérmica de colágeno desorganizados con escasa presencia de tejido conjuntivo difuso (Figura 5), y en la coloración de PR/P, se observaron áreas de birrefringencia rojiza, indicando escasa a moderada presencia de colágeno maduro tipo I (color rojo

brillante en la polarización) (Figura 6).

El MC es una de las neoplasias dermatológicas más frecuentes en equinos, pudiendo llevar a complicaciones metastásicas, siendo considerada una de las principales enfermedades neoplásicas con mayores tasas de morbilidad y mortalidad en caballos tordillos [3], por lo que se debe instaurar una vigilancia epidemiológica de la enfermedad en este tipo de caballos, con el fin de realizar estudios de incidencia, frecuencia, prevalencia y pérdidas económicas.

El MC es la segunda neoplasia dermatológica de los caballos, después del sarcoide o del carcinoma de células escamosas, representando del 5 al 14% de las neoplasias cutáneas en la especie [4]. Esto concuerda con lo informado por Carvalho *et al.* [20], quienes reportaron 10% de frecuencia de melanoma en dermatopatías tumorales en equinos del Nordeste Brasileiro; de igual forma, Baccarin *et al.* [21]

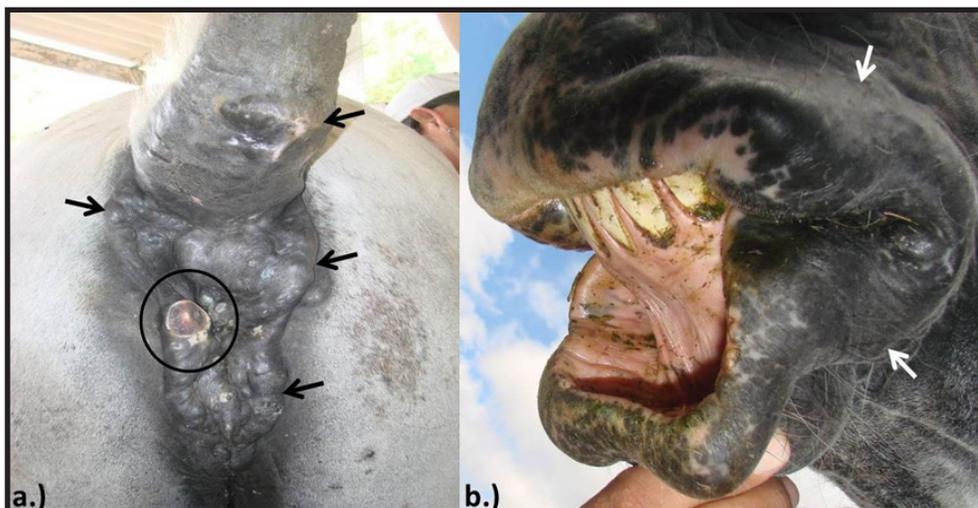


Figura 1. Caracterización clínica de las lesiones en una yegua de 14 años de edad. a.) Apariencia tumoral infiltrativa exofítica, de consistencia firme, hiperpigmentada (flechas) y con grave ulceración (círculo). b.) Engrosamiento e hiperpigmentación de las comisuras labiales (flechas)

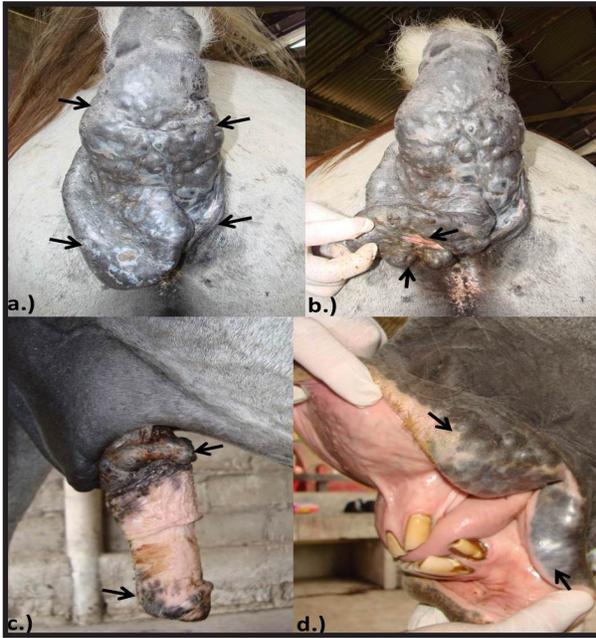


Figura 2. Ubicación mixta de las lesiones en un caballo de 16 años de edad. a.) Región perineal. b.) Región perianal y anal. c.) Pene y d.) Comisura de los labios

reportaron 14% de frecuencia en equinos atendidos en un Hospital de Sao Paulo (Brasil). Frecuencias inferiores fueron reportadas por Marcolongo-Pereira *et al.* [22], quienes reportaron 3% de melanomas en un estudio de neoplasias y lesiones tumoriformes de piel en equinos de la región Sur de Rio Grande do Sul (Brasil). Asimismo, Assis-Brasil *et al.* [23], en un estudio realizado sobre dermatopatías en 710 equinos reportaron 1,2% de frecuencia de melanoma en Rio Grande do Sul (Brasil). De igual forma, Sprenger *et al.* [24], reportaron 1,2% de melanoma en un estudio retrospectivo en neoplasias cutáneas diagnosticadas en el Laboratorio de Patología Veterinaria en Paraná (Brasil).

Las lesiones cutáneas de los animales estudiados, se localizaron principalmente en áreas típicas como región perineal, anal, perianal y genital (vulva, pene y prepucio) y en menor proporción en regiones atípicas como cuello, comisura labial y mucosa oral, de acuerdo con lo reportado por Navarro *et al.* [7] y Phillips y Lembcke [10].

Las características macroscópicas de las lesiones de los animales del presente estudio fueron similares a las reportadas por Metcalfe *et al.* [8], Montgomery [9] y Schoniger y Summers [11], por lo que fueron clasificados como MC de tipo maligno (melanoma dérmico), por su apariencia tumoral exofítica, de consistencia firme, hiperpigmentada, presencia de ulceraciones y evidencias de metástasis.

Los hallazgos histopatológicos del presente estudio con la coloración de HE, se corresponden con los reportados en la literatura para el diagnóstico del MC [3, 4, 10, 12, 18, 19], siendo clasificados como melanomas dérmicos (malignos), por la presencia de células epitelioides pleomórficas y redondas de tamaño variable, con diferencia de núcleos, variado número de células en diferentes fases de mitosis, asimismo, las áreas tumorales eran difusamente definidas, y fuertemente pigmentadas, observándose la presencia de grandes cantidades de melanocitos atípicos agrupados (en nidos o tecas), y evidencia de melanocitos en la región dermo-epidérmica migrando hacia la epidermis.

De igual forma, en la coloración de TG se evidenció escasa proliferación dérmica de colágeno desorganizado con escasa presencia de tejido conjuntivo difuso. Asimismo, en la coloración de PR/P, mostró pequeñas áreas de birrefringencia rojiza, indicando presencia moderada de colágeno maduro tipo I y ausencia de colágeno tipo III. Esto podría indicar

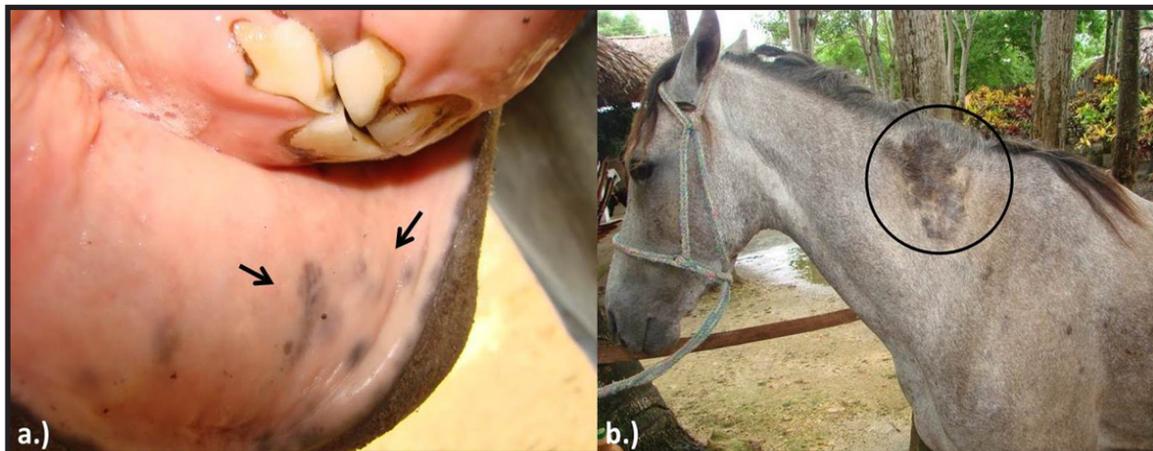


Figura 3. Ubicación atípica de las lesiones en un caballo de 9 años de edad. a.) Mucosa oral. b.) Tabla del cuello

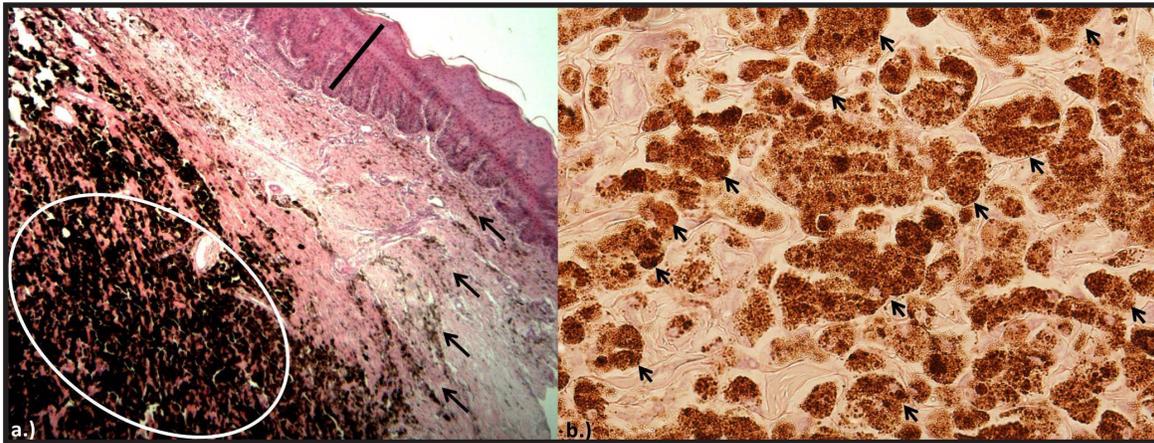


Figura 4. Tinción de HE. a.) Áreas tumorales difusamente definidas y fuertemente pigmentadas. Obsérvese la hiperpigmentación de la dermis (círculo), la presencia de melanocitos en la región dermo-epidérmica migrando hacia la epidermis (flechas) y la hiperqueratosis (barra). 4x. b.) Presencia de grandes cantidades de melanocitos atípicos agrupados (en nidos o tecas) (flechas). 40x

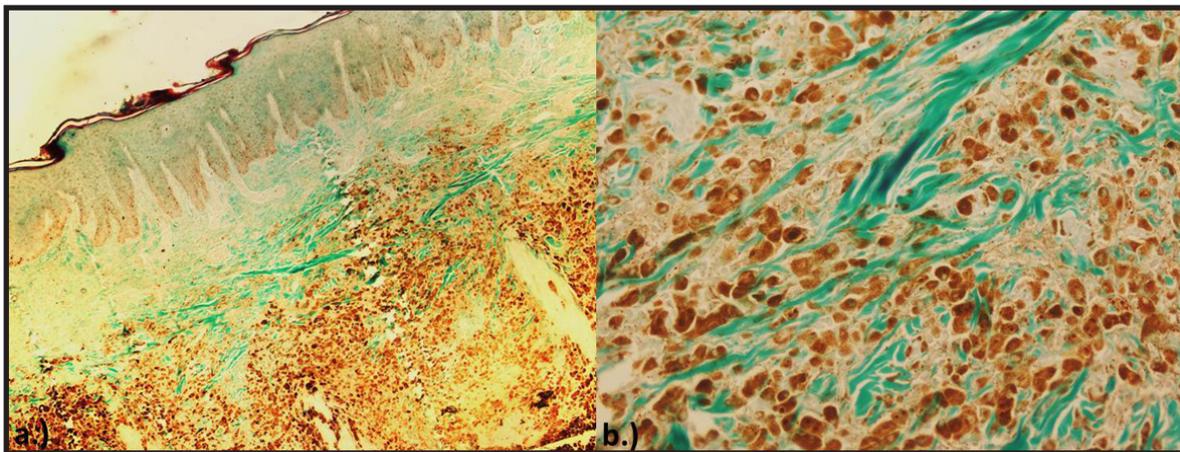


Figura 5. Tinción de TG, mostrando fibras de colágeno (color verde). a.) Moderada proliferación en la unión dermo-epidérmica y escasa en el tejido tumoral. 4x. b.) Escasa y desorganizada presencia en la periferia del tejido tumoral. 40x

la poca respuesta regenerativa del organismo frente al proceso de progresión de células cancerígenas, pudiendo ser utilizada para establecer el grado de malignidad, ya en que los tumores malignos predominan de el colágeno tipo I, en comparación con el tumor benigno con predominio de colágeno III [25]. Cardona *et al.* [26] evidenciaron predominio de colágeno tipo I en un estudio realizado en carcinoma de células escamosas bien diferenciados en bovinos. Koenig *et al.* [27], demostraron que el colágeno tipo I reduce la adhesión celular y aumenta la proliferación tumoral en el cáncer de humanos. De igual forma, van-Kempen *et al.* [28] demostraron el efecto proangiogénico de la expresión del colágeno tipo I, que contribuye a la angiogénesis que posteriormente facilita la progresión microinvasiva en los tumores profundamente

invasores, considerando que el crecimiento del melanoma invasivo se ha correlacionado con un aumento previo en la densidad de vasos sanguíneos. Sin embargo, es preciso aclarar que no existen reportes del uso de técnicas histoquímicas como TG y PR/P como apoyo diagnóstico y pronóstico del MC en equinos, pero es importante considerar la expresión del colágeno tipo I en el patrón de angiogénesis y soporte al tejido neoplásico.

El estudio fue realizado en el Departamento de Córdoba, Colombia, el cual presenta condiciones agroecológicas de bosque tropical lluvioso, con temperatura promedio de 28°C y humedad relativa del 82%, por lo que Rosengren *et al.* [5] y Smith *et al.* [19] explican que este tipo de neoplasias cutáneas son comunes en caballos tordillos (grises)

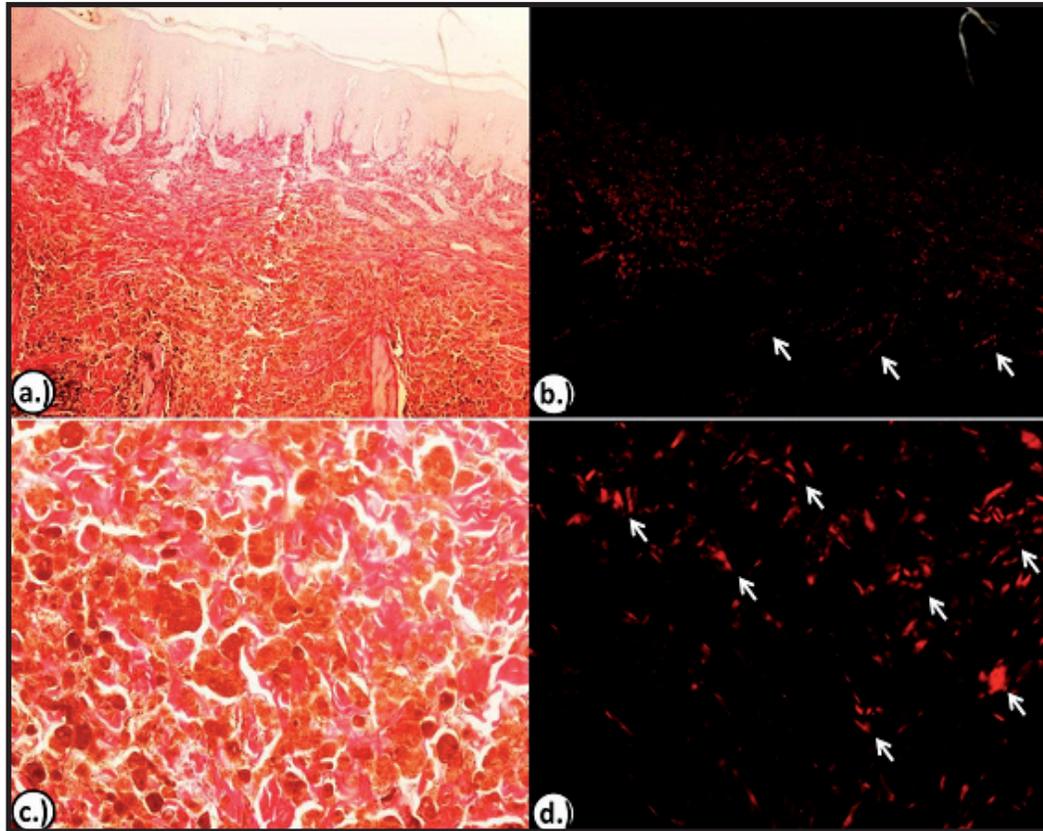


Figura 6. Tinción de PR/P sin y con polarización respectivamente, mostrando áreas de birrefringencia rojiza, lo que indica presencia de colágeno maduro tipo I (color rojo brillante en la polarización) (ver flechas). a.) y b.) Presencia moderada de colágeno tipo I en la unión dermo-epidérmica y escasa en la periferia del tejido tumoral. 4X. c.) y d.) Escasa presencia de colágenos tipo I en la periferia del tejido tumoral. 20X

y es considerada una condición casi inevitable en animales con este tipo de color que viven en países de clima tropical con alta incidencia de luz UV, por lo que se sospecha que el aumento de la producción de α -MSH (hormona estimulante de α -melanocitos), influenciada por la luz solar, pueda estar involucrado en la patogénesis de estas neoplasias [6]. Sin embargo, de algún modo es controversial, y se cuestiona el papel de la exposición a elevados niveles de radiación UV en la patogenia del MC, debido a la elevada frecuencia en áreas de la anatomía del caballo protegidas de la luz solar como la región perineal, anal y perianal [29].

Los animales estudiados fueron de la raza Criollo Colombiano, siendo el primer reporte histológico e histoquímico de la enfermedad en esta raza. Diversos reportes señalan predisposición de varias razas como la Árabe, Percherón, PSI, Lipizzaner, Andalúz, Shire, Irish Draught y Pony Galés; sin embargo, estos reportes en la mayoría de las razas revelaron la presencia de un alto porcentaje de caballos tordillos y explican que la contribución de la raza

está relacionada al grado de pigmentación de la piel, por lo que la base genética de la susceptibilidad es indirecta, dependiendo del grado de pigmentación, ya que las lesiones se desarrollan cuando el pigmento está faltando en algunas áreas de la piel, independiente de la cantidad [5, 19].

La edad de los animales del presente reporte se encontraba entre los 8 y 16 años, concordando con lo reportado por Moore *et al.* [18], quienes manifiestan que la mayor presentación del MC en equinos ocurre, en edades superiores a 6 años. De igual forma, estos mismos autores expresan que el aumento de la edad es claramente un factor que aumenta la susceptibilidad de ocurrencia de neoplasias en todas las especies. Sin embargo, LeRoy *et al.* [30] afirman que, el riesgo de desarrollar neoplasia cutánea en equinos no aumenta con la edad, por lo que se han registrado en caballos de otros colores desde 2 meses hasta 14 años de edad.

En cuanto al aspecto económico, el MC es el segundo tumor de mayor presentación en equinos, por lo que ocasiona pérdidas en la industria equina,

debido a la disminución en rendimiento, ya sea por invasión local o por efectos causados por la metástasis, costos elevados de tratamientos, muertes eventuales o descartes [10], demostrándose la necesidad de selección de animales pigmentados o de un color diferente, ya que este tipo de neoplasias cutáneas son comunes en caballos tordillos (grises) y es considerada una condición casi inevitable en animales con este tipo de color [5, 19].

CONCLUSIONES

Las características clínicas de las lesiones cutáneas concordaron con los hallazgos histopatológicos encontrados en 24 equinos del Departamento de Córdoba con presencia de MC, siendo un aporte importante para el diagnóstico certero de esta afección, y sobre la importancia de la utilización de técnicas histoquímicas en el pronóstico, debido los datos encontrados sobre la expresión del colágeno tipo I en el patrón de angiogénesis y soporte al tejido neoplásico. En tal sentido, se advierte sobre la presentación de la enfermedad en caballos criollos de color tordillo de este Departamento.

AGRADECIMIENTOS

Al laboratorio de Patología del Departamento de Ciencias Pecuarias de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de Córdoba, Colombia; al laboratorio de Biología Estructural del Departamento de Biología General y al laboratorio de Sistemática Molecular/BEAGLE del Departamento de Biología Animal de la Universidad Federal de Viçosa, Brasil, por su apoyo incondicional en el procesamiento y análisis de las muestras.

DECLARACIÓN DE CONFLICTO DE INTERÉS

Manifestamos que no existen relaciones económicas o de otra índole que podría conducir a un conflicto de interés entre las partes.

APORTE DE LOS AUTORES AL TRABAJO

JACA y JABM: fase de campo; MIVV: diagnóstico microscópico y análisis histopatológico; JACA, JABM y MIVV: redacción del manuscrito.

REFERENCIAS

1. Taylor S, Haldorson G. A review of equine mucocutaneous squamous cell carcinoma. *Equine Vet.* 2013; 25: 374-378.
2. Brum J, Souza T, Barros C. Aspectos epidemiológicos e distribuição anatômica das diferentes formas clínicas do sarcoide equino no Rio Grande do Sul: 40 casos. *Pesq Vet Bras.* 2010; 30: 839-843.
3. Laus F, Cerquetella M, Paggi E, Ippedico G, Argentieri M, Castellano G, *et al.* Evaluation of cimetidine as a therapy for dermal melanomatosis in grey horse. *Israel J Vet Med.* 2010; 65(2):48-52.
4. Spugnini E, D'Alterio G, Dotsinsky I, Mudrov T, Dragonetti E, Murace R, Citro G, Baldi A. Electrochemotherapy for the treatment of multiple melanomas in a horse. *J Equine Vet Sci.* 2011; 31 (8): 430-433.
5. Rosengren G, Golovko A, Sundström E, Curik I, Lennartsson J, Seltenhammer M *et al.* A cis-acting regulatory mutation causes premature hair graying and susceptibility to melanoma in the horse. *Nat Genet.* 2008; 40: 1004-1009.
6. Seltenhammer M, Heere-Ress E, Brandt S, Druml T, Jansen B, Pehamberger H, Niebauer G. Comparative histopathology of Grey horse melanoma and human malignant melanoma. *Pigment Cell Res.* 2004; 17(6): 674-681.
7. Navarro C, Rodríguez M, Fuentes E. Melanoma maligno palpebral en un equino: reporte de un caso. *Rev Sist Prod Agroecol.* 2012; 3(1): 139-145.
8. Metcalfe L, O'Brien P, Papakonstantinou S, Cahalan S, McAllister H, Duggan V. Malignant melanoma in a grey horse: case presentation and review of equine melanoma treatment options. *Ir Vet J.* 2013; 66(1): 22-27.
9. Montgomery K. Equine ocular neoplasia: A review. *Equine Vet Educ.* 2014; 26 (7):372-380.
10. Phillips J, Lembcke L. Equine melanocytic tumors. *Vet Clin Equine.* 2013; 29(3): 673-687.
11. Schoniger S, Summers B. Equine skin tumours in 20 horses resembling three variants of human melanocytic naevi. *Vet Dermatol.* 2009; 20 (3):165-173.
12. Moussa R, Sevastre B, Taulescu M, Bolfă P, Gal A, Tabaran F *et al.* Histological and macroscopical study of horse melanoma. *Bulletin UASVM, Vet Med.* 2011; 68(1): 252-259.
13. Cardona J, Vargas M, Perdomo S. Estudio clínico e histopatológico del sarcoide fibroblástico en burros (*Equus asinus*) en Colombia. *Rev Cient FCV-LUZ.* 2013a; XXIII (2):97-104.
14. Carvajal J, Bonilla A, Rondón I. Carcinoma de células escamosas con metástasis pulmonar en un equino Criollo

- Colombiano: reporte de caso. Rev CES Med Zootec. 2012; 7 (2):56-63.
15. Cardona J, Vargas M, Perdomo S. Evaluacion clinica e histopatológica de la pitiosis cutánea en burros (*Equus asinus*) Rev Med Vet. 2013b; 25:9-19.
 16. Pabón J, Eslava J, Gómez R. Generalidades de la distribución espacial y temporal de la temperatura del aire y de la precipitación en Colombia. Meteorol Colomb. 2001; 4:47-59.
 17. Mrad A. Ética en la investigación con modelos animales experimentales. Alternativas y las 3 RS de Russel. Una responsabilidad y un compromiso ético que nos compete a todos. Rev Col Bioética. 2006; 1(1):163-184.
 18. Moore J, Shaw C, Shaw E, Buechner V, Scarratt W, Crisman M *et al.* Melanoma in horses: Current perspectives. Equine Vet Educ. 2013; 25(3): 144-151.
 19. Smith S, Goldschmidt M, McManus P. A Comparative review of melanocytic neoplasms. Vet Pathol. 2002; 19: 651-678.
 20. Carvalho F, Dantas A, Riet-Correa F, Andrade R, Neto P, Neto E *et al.* Estudo retrospectivo das neoplasias em ruminantes e equídeos no semiárido do Nordeste Brasileiro. Pesq Vet Bras. 2014; 34(3): 211-216.
 21. Baccarin R, Silva L, Belli C, Fernandes W, Zoppa A. Ocorrência de neoplasias em 15 anos de atendimento hospitalar de equídeos. Braz J Vet Res Anim Sci. 2011; 48 (6):439-445.
 22. Marcolongo-Pereira C, Estima-Silva P, Soares M, Sallis E, Grecco F, Raffi M *et al.* Doenças de equinos na região Sul do Rio Grande do Sul. Pesq Vet Bras 2014; 34(3):205-210.
 23. Assis-Brasil N, Marcolongo-Pereira C, Stigger A, Fiss L, Santos B, Coelho A *et al.* Equine dermatopathies in southern Brazil: a study of 710 cases. Ciência Rural, Santa Maria. 2015; 45(3):519-524.
 24. Sprenger L, Gabardo L, Risolia L, Molento M, da Silva A, Sousa R. Freqüência de neoplasias cutâneas em equinos: estudo retrospectivo do laboratório de Patologia Veterinária da Universidade Federal do Paraná. Arch Vet Sci. 2014; 19(3):81-86.
 25. Samar M, Ávila R, Asis O, Fonseca I, Corball A. Identificación de colágeno I y III con Picrosirius red/polarización en el estroma de tumores salivales. Int J Odontostomat. 2012; 6(1):59-64.
 26. Cardona J, Vargas M, Perdomo S. Estudio clínico e histopatológico del carcinoma de células escamosas de bovinos en el Departamento de Córdoba, Colombia. Rev Fac Cs Vets UCV. 2013c; 54(2):68-77.
 27. Koenig A, Mueller C, Hasel C, Adler G, Menke A. Collagen type I induces disruption of E-cadherin-mediated cell-cell contacts and promotes proliferation of pancreatic carcinoma cells. Cancer Res. 2006; 66(9): 4662-4671.
 28. van-Kempen L, Rijntjes J, Mamor-Cornelissen I, Vincent-Naulleau S, Gerritsen M, Ruiter D *et al.* Type I collagen expression contributes to angiogenesis and the development of deeply invasive cutaneous melanoma. Int J Cancer. 2008; 122:1019-1029.
 29. Patterson-Kane J, Ginn P. Dermal malignant melanoma in a horse with multifocal pancyokeratin expression. J Vet Diagn Inv. 2003; 15:54-56.
 30. LeRoy B, Knight M, Eggleston R, Torres-Velez F, Harmon B. Tail base mass from a horse of a different colour. Vet Clin Pathol. 2005; 34(1):69-71.