



**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA  
FACULTAD DE VETERINARIA**



**LINFOMA MULTIFOCAL DE LINFOCITOS B EN EJEMPLAR DE  
*ALOUATTA CARAYA***

**por**

**FERRANDO DE ÁVILA, Cecilia**

TESIS DE GRADO presentada como uno  
de los requisitos para obtener el título de  
Doctor en Ciencias Veterinarias  
Orientación: Medicina Veterinaria

MODALIDAD: Caso clínico

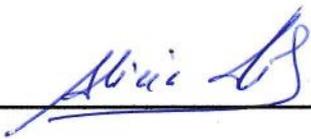
**MONTEVIDEO  
URUGUAY  
2020**

T9  
988

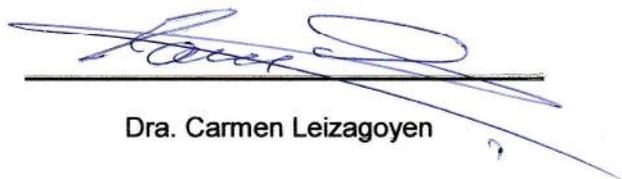
**PÁGINA DE APROBACIÓN**

**Tesis aprobada por:**

**Presidente:**   
Dra. Alicia Decuadro

**Segundo miembro:**   
Dra. Alicia Dib

**Tercer miembro:**   
Dra. Rosa Gagliardi

**Cuarto miembro:**   
Dra. Carmen Leizagoyen

**Fecha de aprobación:** 22/12/2020

**Autor:**   
Br. Cecilia Ferrando de Ávila

FACULTAD DE VETERINARIA  
Aprobado con 12 (doce) 

520189 Genes conliza P016RM-2020

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Facultad de Veterinaria y la Universidad de la República por estos años de formación académica.

A mi tutora la Dra. Alicia Dib y co-tutora la Dra. Carmen Leizagoyen por su tiempo y apoyo para dirigir este trabajo.

Al personal veterinario del Parque Lecocq, por haber compartido parte de este proceso y por su disposición para formarme en el trabajo con animales silvestres.

A la Dra. Déborah César por su participación y la ayuda brindada para la interpretación de los resultados.

A mis padres y mi familia por su apoyo incondicional siempre.

## TABLA DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS .....	1
LISTA DE FIGURAS.....	3
LISTA DE TABLAS.....	3
RESUMEN .....	5
SUMMARY .....	6
1. INTRODUCCIÓN.....	7
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA .....	9
2. I. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LOS MONOS AULLADORES .....	9
<i>Estatus de conservación</i> .....	11
2. I.1 La especie <i>Alouatta caraya</i> .....	13
2. II. GENERALIDADES DE LAS NEOPLASIAS LINFOIDES .....	16
2. II.1 Clasificación de neoplasias linfoides .....	17
2. II.2 Características clínicas de los linfomas .....	18
2. II.3 Diagnóstico de linfoma .....	19
2. II.4 Estadificación clínica del linfoma .....	21
2. II.5 Tratamiento del linfoma .....	22
2. II.6 Pronóstico .....	24
2. III. NEOPLASIAS LINFOIDES EN PRIMATES NO HUMANOS .....	25
2. III.1 Linfoma en primates no humanos.....	26
A. Enfermedad linfoproliferativa en primates del Viejo Mundo .....	28
B. Enfermedad linfoproliferativa en primates del Nuevo Mundo.....	29
3. OBJETIVOS .....	33
3.I. Objetivo general.....	33
3.II. Objetivos específicos .....	33
4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	34
4.I. Caso clínico .....	34
5. RESULTADOS .....	36
5.I. Métodos paraclínicos de diagnóstico .....	36
5.II. Hallazgos de necropsia.....	37
5.III. Resultados de histopatología .....	44
6. DISCUSIÓN .....	52
7. CONCLUSIONES.....	55
8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	56

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Distribución de las especies del género <i>Alouatta</i> . Fuente: Rotta, 2016.....	9
<b>Figura 2.</b> Dos ejemplares adultos de <i>Alouatta caraya</i> , hembra de color bayo y macho de color negro.....	14
<b>Figura 3.</b> Mapa de distribución de <i>A. caraya</i> .....	15
<b>Figura 4.</b> Mapa de Uruguay mostrando los registros de <i>A. caraya</i> en el país.....	15
<b>Figura 5.</b> Tabla de valores hematológicos de monos aulladores inoculados con HVS, extraída de Rangan y col., 1977.....	31
<b>Figura 6.</b> (a) Nódulo linfático pancreático; muchos linfocitos se apiñan en los senos subcapsulares y se diseminan de manera difusa por la corteza. (b) Nódulo linfático pancreático; características morfológicas de los tipos de células neoplásicas en el nodo. Extraído de Rangan y col., 1977.....	32
<b>Figura 7.</b> Estado general del animal antes de iniciar la necropsia.....	37
<b>Figura 8.</b> Se observa pelo hirsuto, piel seca y caquexia.....	38
<b>Figura 9.</b> Órganos al incidir la cavidad abdominal.....	38
<b>Figura 10.</b> (A) Pulmones en cavidad torácica de coloración y aspecto normal. (B) Corazón sin particularidades. Escasa cantidad de tejido adiposo en pericardio.....	40
<b>Figura 11.</b> (A) Estómago, ciego y colon distendidos, con gas. Linfonodos mesentéricos reactivos. (B) Ciego y colon distendidos, se observa coloración grisácea anormal del intestino. (C). Sección de mucosa intestinal que se presente engrosada, irregular y con petequias.....	41
<b>Figura 12.</b> Nódulos mesentéricos reactivos, aumentados de tamaño y congestivos, coloración oscura anormal.....	42
<b>Figura 13.</b> Hígado sin alteraciones macroscópicas evidentes.....	43
<b>Figura 14.</b> Ambos riñones con relación córtico-medular conservada, sin lesiones macroscópicas.....	43
<b>Figura 15.</b> Mucosa intestinal con necrosis de las vellosidades (*) e infiltrado de células linfoides.....	45
<b>Figura 16.</b> Infiltrado de células linfocitarias con moderado pleomorfismo en la mucosa intestinal (*). Glándulas intestinales dilatadas con aumento de células caliciformes (flecha). Tinción hematoxilina-eosina (20x).....	46
<b>Figura 17.</b> Mucosa y submucosa intestinal con infiltración linfocitaria. (A) Tinción hematoxilina-eosina, 20x. (B). Inmunohistoquímica con marcador CD20, tinción positiva para células B (*).....	47
<b>Figura 18.</b> Mucosa intestinal (40x) se observan células linfocitarias redondeadas, núcleo grande, leve a moderado citoplasma y moderado pleomorfismo.....	48

**Figura 19.** A Corteza ganglionar con alteración de la estructura normal y depleción celular en folículos linfoides (\*). Tinción H-E (20x). B. Folículos linfoides de la corteza ganglionar con tinción inmunohistoquímica positiva para marcador CD20 (20x) .....49

**Figura 20.** Conjunto de células linfoides infiltrando la cápsula ganglionar (flechas). (A) Tinción H-E (20x). (B) Inmunohistoquímica con marcador CD20, reacción positiva .....50

**Figura 21.** Células linfoides con coloración de membrana citoplasmática luego de la tinción inmunohistoquímica con marcador CD20 .....51

## LISTA DE TABLAS

**Tabla 1.** Clasificación del estatus de conservación de *Alouatta* sp. y tendencia poblacional en base a datos de la lista roja de la UICN (Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza). ..... 12

**Tabla 2.** Clasificación de los linfomas según Kiel y la Working Formulation del INC, modificado de Ettinger, 2003 ..... 18

**Tabla 3.** Sistema de estadificación clínica de los linfomas en animales domésticos propuesto por la OMS. Modificado de Vail y Young, 2007 ..... 22

**Tabla 4.** Resultados de Hemograma de Mimbí 15 de agosto de 2019.....36

**Tabla 5.** Resultados de bioquímica sanguínea de Mimbí 15 de agosto de 2019 36

## RESUMEN

El objetivo de este trabajo es presentar un caso de linfoma de linfocitos B ubicado a nivel de intestino y nódulos mesentéricos en un ejemplar añoso de *Alouatta caraya*, mantenido en cautiverio en el zoológico Parque Lecocq de Montevideo, Uruguay. El cuadro se manifestó con episodios de diarrea intermitente, pérdida de peso, anorexia y depresión. En una primera instancia se realizó un tratamiento sintomático. Ante la falta de respuesta al mismo, se procedió a realizar la captura e inmovilización química con ketamina para mejor evaluación. Se constató la presencia de masas palpables a nivel abdominal, las cuales se observaron en la ultrasonografía y fueron puncionadas para diagnóstico citológico. También se extrajo sangre para hemograma, enzimas hepáticas y perfil renal. Los hallazgos ultrasonográficos hicieron presumir que se estaba ante un caso de linfoma alimentario. Los resultados del diagnóstico citológico establecieron la compatibilidad con esa enfermedad. No se realizó tratamiento específico para la patología. El animal falleció 9 semanas después del inicio de la sintomatología. Se realizó la necropsia, donde se constató afección del intestino delgado, colon, ciego y de toda la cadena ganglionar a nivel mesentérico. Se tomaron muestras de los órganos con afectación macroscópicamente visible y se remitieron para estudio anatomopatológico. Se pudo confirmar que se trataba de una infiltración linfocitaria multifocal a difusa en el intestino. El mismo patrón lesional se encontró en los linfonodos mesentéricos. Mediante inmunohistoquímica con marcador CD20 se identificó que las células involucradas correspondían a Linfocitos B. Se considera que este reporte representa un aporte importante a la casuística e investigación de las neoplasias en los primates no humanos.

## SUMMARY

The main objective of this work is to present a case of B cell lymphoma with alimentary presentation in an elderly specimen of *Alouatta caraya*. The animal was kept in captivity at the Parque Lecocq zoo in Montevideo, Uruguay. Clinical signs included a history of weight loss, anorexia, diarrhea and depression. Symptomatic treatment was initially administered. Because no clinical remission was observed, the animal was anesthetized with ketamine for further evaluation. Physical exam revealed the presence of a firm palpable mass in the mid portion of the abdomen, which could be observed by ultrasound. Fine needle aspiration was performed for cytological study. Blood samples were sent for blood count and serum biochemistry. Ultrasound findings suggested a possible case of alimentary lymphoma and then results of cytological diagnosis established compatibility with this disease. The patient did not receive specific treatment for the pathology and died 9 weeks after the first clinical signs appeared. Necropsy findings included involvement of the small intestine, colon, cecum, and mesenteric lymph nodes. Organs with macroscopically visible lesions were referred for pathological study. Multifocal to diffuse lymphocytic infiltration of the intestine was identified. The same lesion pattern was present in the mesenteric lymph nodes. On immunohistochemistry the lymphoid cells were positive for CD20 marker, demonstrating B-cell lineage. This case report is considered to represent an important contribution to casuistry and investigation of neoplasms in non-human primates.

## 1. INTRODUCCIÓN

Los monos aulladores, del género *Alouatta* (Lacépède, 1799), son primates neotropicales, también llamados primates del Nuevo Mundo, pertenecientes a la familia *Atelidae* (Rosenberger, 1981). Presentan la distribución más amplia dentro de los primates americanos, extendiéndose desde el sureste de México (latitud 18-20°) hasta el noreste de Argentina y sur de Brasil (latitud 27-31°) (Printes y col., 2001). *Alouatta caraya* es la especie más austral de todos los monos neotropicales (Hirsch y col., 1991). Su presencia en Uruguay es incierta, constando de reportes aislados de Villalba y col., (1995), y de Jardim y col., (2019) quienes sugieren la realización de estudios de campo más extensivos para poder confirmar la presencia de poblaciones establecidas en nuestro territorio.

A pesar de su amplio rango de distribución, su presencia en numerosas reservas naturales y en varios países, el actual estatus de conservación de *A. caraya* según la Lista Roja de la UICN es Casi amenazado y su tendencia poblacional es decreciente. Es por esto que se considera relevante aportar información acerca de las patologías que puedan afectar a estos primates.

El presente trabajo tiene como objetivo describir la presentación clínica, estudios paraclínicos e histopatológicos de un caso de linfoma multifocal de linfocitos B en un ejemplar de *Alouatta caraya* que era mantenido en cautiverio en el zoológico Parque Lecocq de Montevideo, Uruguay.

Las neoplasias en primates siempre despertaron gran interés debido a las semejanzas anatómicas y fisiológicas de estos animales con los humanos (Beniashvili, 1989). Hasta la mitad del siglo XX, se consideraba que las mismas no eran enfermedades comunes en los monos. A medida que comenzó a ser más frecuente el análisis de los registros en los centros primatológicos y laboratorios, cambió considerablemente la percepción acerca de los tumores en primates. A su vez, conforme aumentó la edad de las poblaciones en cautiverio, los reportes de neoplasia se hicieron más usuales (McClure, 1980; Lapin, 1982; Lowenstine, 1986; Beniashvili, 1989; Remick y col., 2009; Simmons y Mattison, 2011). Igualmente, la información disponible aún es limitada, lo que muchas veces obliga a estudiar la presentación de la enfermedad en otras especies, ya sea realizando comparaciones con medicina humana o recurriendo a bibliografía sobre oncología veterinaria en los pequeños animales domésticos.

Distintos tipos de tumores con diferente localización y carácter histológico se han descrito en primates del Viejo y del Nuevo Mundo. Actualmente se cuenta con varias revisiones bibliográficas que recopilan información acerca de los desórdenes proliferativos en los primates no humanos (Lowenstine, 1986; Beniashvili, 1989; Miller, 2012; Lapin y Yakovleva, 2014). Según la revisión de Lapin y Yakovleva (2014), la neoplasia maligna más frecuente para todas las especies de primates estudiadas es la neoplasia de los órganos hematopoyéticos: linfomas y leucemias.

La alta prevalencia de linfoma en primates, se ha relacionado al hecho de que muchos de los casos la enfermedad se asocia a infecciones virales (Miller, 2012). Entre ellos se ha vinculado a infecciones con retrovirus simio (STVL-1) y con los linfocriptovirus (LCV), herpesvirus estrechamente vinculados al virus de Epstein-Barr (EBV)

de los humanos (Miller, 2012).

En relación a los monos aulladores específicamente, no se hallaron reportes de neoplasia linfoide de presentación espontánea en esta revisión bibliográfica. Los registros de esta enfermedad en el género *Alouatta*, se limitan a investigaciones de Rangan, 1976 y Rangan y col., 1977 que inocularon con *Herpesvirus saimiri* a 4 ejemplares de *Alouatta caraya* lo que derivó en el desarrollo de enfermedad linfoproliferativa maligna en todos los casos, 5-6 semanas luego de la inoculación.

Este trabajo, representa un nuevo reporte sobre el Linfoma para la especie *Alouatta caraya* y pretende contribuir a la casuística y comprensión de las neoplasias linfoides en los primates no humanos. Además, debido a la dificultad en acceder a la casuística de enfermedades en los animales silvestres, los aportes a la misma se consideran fundamentales.

## 2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 2. I. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LOS MONOS AULLADORES

#### ***Taxonomía y distribución***

Los monos aulladores, del género *Alouatta* (Lacépède, 1799), son primates neotropicales (también llamados primates del Nuevo Mundo, americanos o platirrininos) que se agrupan dentro del Infraorden Simiiformes, Parvorden Platyrrhini (Geoffroy, 1812). Pertenecen a la familia *Atelidae* (Rosenberger, 1981) la cual comprende a los monos neotropicales de mayor tamaño y cola prensil.

Taxonómicamente son reconocidas nueve especies dentro del género *Alouatta*: *A. palliata*, *A. pigra*, *A. seniculus*, *A. arctoidea*, *A. sara*, *A. macconnelli*, *A. guariba*, *A. belzebul*, *A. caraya*. Tentativamente también se consideran especies verdaderas a *A. nigerrima*, *A. ululata*, *A. discolor*, pero se requieren estudios morfológicos y/o genéticos para confirmar su estatus específico (Cortes-Ortiz y col., 2015). La Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN) en su lista de clasificación según el estatus de conservación, incluye también a *A. puruensis* y a *A. juara*, pero ambas son consideradas subespecies de *A. seniculus* desde el año 2015.

Entre los primates del Nuevo Mundo, son los que presentan la distribución más amplia, extendiéndose desde el sureste de México (latitud 18-20°) hasta el noreste de Argentina y sur de Brasil (latitud 27-31°) (Printes y col., 2001). Esto hace que también sean los que habitan el mayor rango de ambientes forestales (Eisenberg, 1979). Ocupan diversos tipos de hábitats desde selvas deciduas y selvas tropicales, hasta llanuras con árboles relativamente bajos en campo abierto. Topográficamente, pueden encontrarse en distintas altitudes, desde el nivel del mar hasta alturas mayores a 3200 metros (Hernández-Camacho y col, 1976).

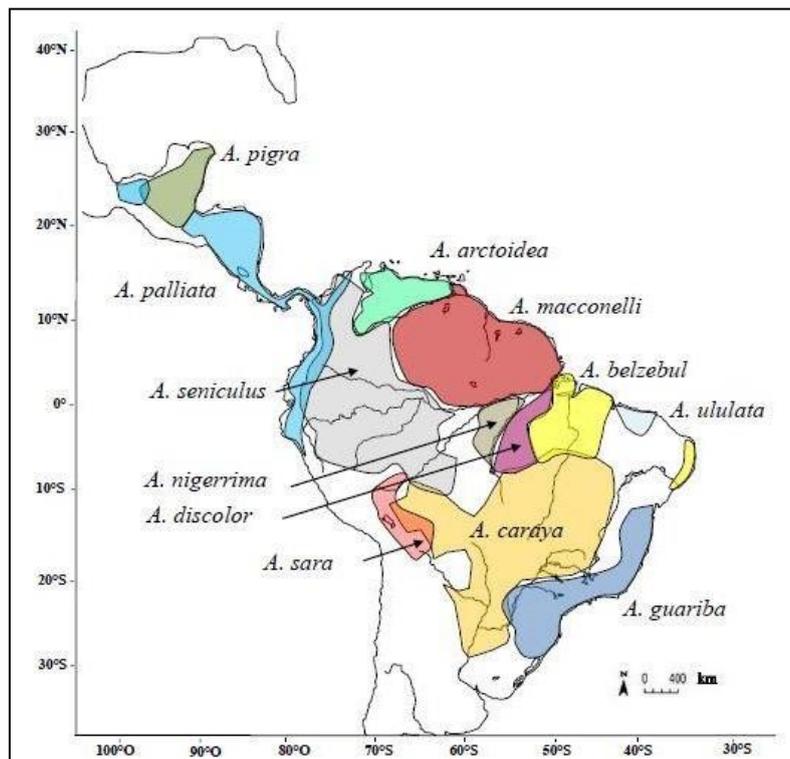


Figura 1. Distribución de las especies del género *Alouatta*. Fuente: Rotta, 2016.

### **Características anatómicas y fisiológicas**

Son los primates neotropicales que presentan mayor dimorfismo tanto en masa corporal como en patrones de colores. En todas las especies, los machos son al menos 25% más pesados que las hembras, y en dos casos (*A. caraya* y *A. guariba*) son también dicromáticos. El peso corporal en los monos adultos varía en un rango entre 4 a 12.5 kg (Thorington y col., 1979; Crockett y Eisenberg, 1987; Ford y Davis, 1992).

La común denominación de "aulladores" para los monos del género *Alouatta*, se debe a las potentes vocalizaciones que emiten. Esto es posible, ya que el hueso hioides de la laringe se encuentra muy desarrollado, funcionando como una caja de resonancia (Ybarra y Schön, 1987). La mayor neumatización y agrandamiento de los cartílagos laríngeos, junto con las bolsas de aire, son algunos de los cambios evolutivos que resultan en una mayor potencia del sonido (Youlatos y col., 2015). Las ondas sonoras pueden viajar grandes distancias, incluso a través de la densa vegetación selvática. Presumiblemente, la función de estas vocalizaciones sea informar acerca de la localización y composición del grupo (Kinzey, 1997).

La mayoría de las hembras del género tienen su primer parto alrededor de los 5 años de edad. La gestación tiene una duración de entre 180 a 194 días y los nacimientos ocurren a lo largo de todo el año (Crockett y Eisenberg, 1987). Sin embargo, hay reportes de nacimientos estacionales de *A. caraya* (Zunino y col., 1996; Kowalewski y Zunino, 2004). La estacionalidad reproductiva, estaría relacionada a la mayor disponibilidad de alimento, coincidiendo esta época con el destete de las crías (Di Bitetti y Janson, 2000). La edad de destete es entorno a los 9 meses de edad (Mack, 1979).

### **Dieta**

*Alouatta* es considerado el género más folívoro dentro de los primates del Nuevo Mundo (Hill, 1962). Hay estudios que demuestran que del 40 al 90% del tiempo que dedican a comer, se alimentan de hojas, mayormente de hojas jóvenes (Milton, 1978). También se alimentan de frutos y flores, cuando éstos se encuentran disponibles, por lo que son caracterizados como frugívoros oportunistas (Milton, 1980). La cantidad de proteína de origen animal que consumen es escasa y la obtienen principalmente de insectos como hormigas y termitas (Crockett y Eisenberg, 1987). Sin embargo, algunos reportes sugieren que podrían comer huevos de aves (Neville, 1988; Bicca-Marques y col., 2009).

En comparación con los primates folívoros del Viejo Mundo, los monos aulladores, no presentan un tracto digestivo de gran tamaño ni con grandes saculaciones. Si bien el ciego y el colon tienen mayor superficie en relación a otros primates no folívoros, existen primates frugívoros que sí presentan mayor superficie relativa en estos segmentos intestinales (Hladik, 1967). A modo de ejemplo, algunos índridos (familia a la cual pertenecen los lémures) tienen un ciego con una superficie 6 veces mayor que los aulladores y un colon que duplica la superficie de estos últimos (Hladik, 1967). A su vez, los folívoros africanos, parecen poseer mayores adaptaciones fisiológicas que éstos para fermentar la celulosa y obtener energía de este modo (Milton, 1980). Teniendo en cuenta la pobre cantidad de energía rápida disponible en las hojas, y las carencias adaptativas (morfológicas y fisiológicas) para la digestión de la celulosa, estos animales se encuentran restringidos desde el punto

de vista energético. Esto se traduce en adaptaciones comportamentales asociadas a la conservación de la energía (Milton, 1977; Milton, 1978). Es por este motivo, que presentan largos períodos de inactividad, alta selectividad en la elección de hojas y que evitan realizar movimientos repentinos o desplazamientos rápidos que puedan aumentar la temperatura corporal. También adoptan posturas corporales orientadas a conservar o disipar el calor según se requiera (Milton, 1998).

### **Comportamiento social**

En relación a sus hábitos, son monos diurnos y principalmente arborícolas. La mayoría de sus actividades suceden en los estratos superiores de los bosques (Milton, 1980; Crockett, 1998). Viven en grupos socialmente estables, cuyo tamaño varía entre y dentro de las especies de aulladores, habiendo registros de 2 individuos en *A. caraya* (Rumiz, 1990) hasta grupos de 23 individuos en *A. palliata* (Crockett y Einsenberg, 1987). Tanto machos como hembras abandonan su grupo natal antes de alcanzar la madurez sexual, por lo que la mayoría de los grupos de adultos no están emparentados (Glander, 1980; Clarke, 1990). Las hembras migran y pueden formar un nuevo grupo o unirse a uno ya establecido. Los machos ingresan a un nuevo grupo desplazando al macho alfa de su posición de dominancia (Rudran, 1979; Glander, 1980; Crockett, 1984; Rumiz, 1990).

Los grupos o tropas, generalmente albergan más hembras adultas que machos adultos (Rudran, 1979; Neville, 1988; Rumiz, 1990). Pueden ser tropas:

- unimacho: un solo macho en el grupo.
- multimacho: conviven varios machos adultos sin una marcada relación de dominancia entre ellos, pero sí con machos más jóvenes.
- tropas de machos en gradientes de edades: varios machos adultos con rangos de dominancia según madurez y un solo macho dominante que tiene la mayor cantidad de crías y está emparentado con los machos de menor edad (Eisenberg, 1979).

### **Estatus de conservación**

Los monos aulladores, son el género de primates neotropicales que tienen la distribución más amplia y los que habitan el mayor rango de ambientes forestales, incluyendo ambientes antropizados (Eisenberg, 1979; Nevile, 1988; Estrada, 2015).

Se ha mencionado al género *Alouatta* como un taxón relativamente tolerante a los disturbios ambientales (Lovejoy y col., 1986; Bicca-Marques, 2003), dado que se encuentran presentes en áreas donde otros primates platirrininos no han logrado persistir (Estrada y Coates-Estrada, 1996; Gilbert, 2003). Su relativa falta de adaptación a la folivoría, hace que no estén restringidos al consumo de hojas, habilitándolos a cambiar la dieta al consumo de frutas maduras cuando éstas se encuentran disponibles (Milton, 1998; Pavelka y Knopff, 2004). La flexibilidad en la dieta sumado a la capacidad de vivir en áreas restringidas en tamaño y su estrategia de conservación de energía, son claves para sobrevivir en hábitats modificados (Crockett, 1998; Arroyo-Rodríguez y Dias, 2010; Bicknell y Peres, 2010).

Sin embargo, la pérdida, transformación y fragmentación de los bosques tropicales, no deja de impactar en las poblaciones de aulladores. Son animales arbóreos y su capacidad para desplazarse entre fragmentos de bosques es limitada, especialmente si se encuentran en un entorno agrícola-ganadero (Estrada y Coates-Estrada, 1996; Mandujano y col., 2004, Arroyo-Rodríguez y Mandujano, 2006).

Como consecuencia probable de la modificación y fragmentación de sus hábitats, muchas especies y subespecies de aulladores son clasificadas como amenazadas según la UICN (Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza) (Estrada, 2015).

La UICN considera 14 especies y subespecies de *Alouatta*, a las cuales coloca en diferentes categorías según su estado de (Tabla 1).

**Tabla 1.** Clasificación del estatus de conservación de *Alouatta* sp. y tendencia poblacional en base a datos de la lista roja de la UICN (Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza).

Espece	Estado de Conservación según la Lista Roja de la UICN	Tendencia poblacional según UICN
<i>Alouatta palliata</i>	Vulnerable	Decreciente
<i>Alouatta pigra</i>	En peligro	Decreciente
<i>Alouatta arctoidea</i>	Preocupación menor	Desconocida
<i>Alouatta belzebul</i>	Vulnerable	Decreciente
<i>Alouatta caraya</i>	Casi amenazado	Decreciente
<i>Alouatta discolor</i>	Vulnerable	Decreciente
<i>Alouatta guariba</i>	Vulnerable	Decreciente
<i>Alouatta juara</i>	Preocupación menor	Decreciente
<i>Alouatta macconnelli</i>	Preocupación menor	Estable
<i>Alouatta nigerrima</i>	Preocupación menor	Decreciente
<i>Alouatta puruensis</i>	Preocupación menor	Desconocida
<i>Alouatta sara</i>	Preocupación menor	Decreciente
<i>Alouatta seniculus</i>	Preocupación menor	Decreciente
<i>Alouatta ululata</i>	En peligro	Decreciente

Teniendo en cuenta esta categorización de la UICN, si bien la mitad de las especies y subespecies son categorizadas como Preocupación menor, no hay que dejar de ver que en más de la mitad de los casos, la tendencia poblacional es decreciente.

Según Estrada (2015), la amplia distribución del género *Alouatta* en el Neo trópico, se ha tomado como prueba de la variabilidad ecológica y fenotípica de sus especies, pero no se reconoce que puede tratarse de fenómenos evolutivos pasados y no necesariamente refleja la sustentabilidad de los ecosistemas del siglo XXI.

Si bien los aulladores son de los primates neotropicales más estudiados en bosques fragmentados (Crockett y Eisenberg, 1987; Marsh y Loiselle, 2003; Estrada y col., 2006) la mayoría de las investigaciones se centran únicamente en 4 especies (*A. caraya*, *A. palliata*, *A. pigra* y *A. seniculus*). La limitada disponibilidad de datos sobre muchas de las especies de aulladores no permite realizar predicciones acertadas sobre el peligro actual y futuro de las poblaciones. Las poblaciones y los ecosistemas de los aulladores, enfrentan diversas amenazas que van desde cambios en el paisaje (el hábitat nativo se convierte en tierra de cultivo o ganadera), fragmentación y aislamiento de los bosques, aumento del riesgo de infección por patógenos humanos, la caza excesiva y el cambio climático (Estrada, 2015).

Existe evidencia que indica que la pérdida de hábitat afecta negativamente la distribución y abundancia de los aulladores (Arroyo-Rodríguez y Dias, 2010). La reducción del tamaño de las poblaciones y la restricción de los bosques a superficies más pequeñas, puede afectar negativamente la persistencia de estos primates. Poblaciones poco numerosas son más susceptibles a posibles amenazas como epidemias (Nunn y col., 2006; Agostini y col., 2008; Holzmann y col., 2010), catástrofes naturales y menor variabilidad genética (Oklander, 2006).

En esta línea, la fiebre amarilla ha sido responsable de varias epidemias en poblaciones de aulladores a lo largo de toda su distribución (Bryant y col., 2003; Rudran y Fernández-Duque, 2003; Sallis y col., 2003; Holzmann y col., 2010; de Almeida y col., 2012). Junto con los monos araña, estos platirinos son la especie más sensible al virus de la fiebre amarilla dentro de los primates del Nuevo Mundo, y la infección es prácticamente fatal en todos los casos (Ruch, 1959).

Otro factor a tener en cuenta, es la pérdida de individuos a causa del tráfico ilegal de especies, tema sobre el cual aún no existe mucha información concreta. En 1995, Bertonatti reportó a *A. caraya* como una de las especies de primate más comercializada en Argentina. Para poner esto en contexto, un muestreo del tráfico de especies en Argentina en el año 2016 (Bertonatti, 2016) dio como resultado un total de 7.500 animales involucrados en el comercio ilegal, un número cinco veces mayor a la población libre y cautiva dentro del Ecoparque de Buenos Aires, Argentina.

### **2.1.1 La especie *Alouatta caraya***

Los carayá o también llamados monos aulladores negros, se distinguen de otras especies del género, por poseer un marcado dicromatismo sexual (Bicca-Marques y Calegari-Marques, 1998). Los machos adultos tienen un pelaje de color negro brillante, mientras que el pelaje de las hembras adultas es de color bayo o amarillo claro (Figura 2). Los individuos de ambos sexos nacen con pelaje bayo, las hembras mantienen esta coloración a lo largo de toda su vida, mientras que los machos al llegar a la pubertad comienzan a oscurecerse progresivamente, hasta tornarse de color negro (Shoemaker, 1978). El peso de los machos adultos es de 6.4 a 7.7 kg, mientras que las hembras se encuentran en un rango de 4.3 a 5.1 kg (Rumiz, 1990; Aguiar y col., 2007).



*Figura 2. Dos ejemplares adultos de Alouatta caraya, hembra de color bayo y macho de color negro. Fuente: <https://www.neprimateconservancy.org/black-and-gold-howler.html>.*

Al igual que otras especies del género, son folívoros-frugívoros, aprovechan flores y frutos de estación según disponibilidad (Zunino, 1986; Bicca-Marques y Calegari-Marques, 1994; Agostini y col., 2010). La disponibilidad alimenticia hace que *A. caraya* presente por lo menos dos patrones de nacimiento. Un patrón estacional, en donde los partos se concentran en épocas de mayor escasez de alimento y el destete de los infantes coincide con la mayor disponibilidad de hojas nuevas. Por el contrario, en hábitats que no presentan marcadas fluctuaciones en la abundancia de recursos, los nacimientos ocurren durante todo el año (Zunino y col., 1996; Kowalewski y Zunino, 2004).

Forman grupos de 2-19 individuos integrados por uno o varios machos adultos, una a tres hembras adultas por cada macho maduro, e individuos subadultos, jóvenes e infantes, cuyo número es variable (Zunino, 1989; Rumiz, 1990; Kowalewski y Zunino 2004; Zunino y col., 2007).

Con respecto a su distribución, es la especie más austral de todos los primates neotropicales (Hirsch y col., 1991). Ocupa bosques ribereños y las ecorregiones de Caatinga, Cerrado, Chaco y Pantanal, algunas zonas del Bosque Atlántico en Brasil, Bolivia, Argentina y Paraguay (Rumiz, 1990; Fernández-Duque y col., 2008). En Argentina, es posible encontrarlo en las provincias de Corrientes, Misiones, Chaco, Formosa y noreste de Santa Fe (Brown, 1994). En Brasil se encuentra presente en los estados de Goiás, Mato Grosso, Minas Gerais, Paraná, Rio Grande del Sur y San Paulo (Hirsch y col., 2002) (Figura 3). Su presencia en Uruguay es incierta, constando de un reporte de Villalba y col., (1995), en el departamento de Artigas, que podría corresponder a un ejemplar escapado de algún particular o traficante de fauna y no indicar la presencia de poblaciones silvestres estables. Más

recientemente Jardim y col., (2019), reportaron la presencia de ejemplares de mono carayá en territorio uruguayo. Un reporte fue hecho en Bajada de Pena y el otro en el Valle del Lunarejo (Departamento de Rivera). Ambos se basan en registros filmicos realizados por población local (Figura 4). Los autores sugieren la realización de estudios de campo más extensivos para poder confirmar la presencia de poblaciones establecidas en nuestro territorio.

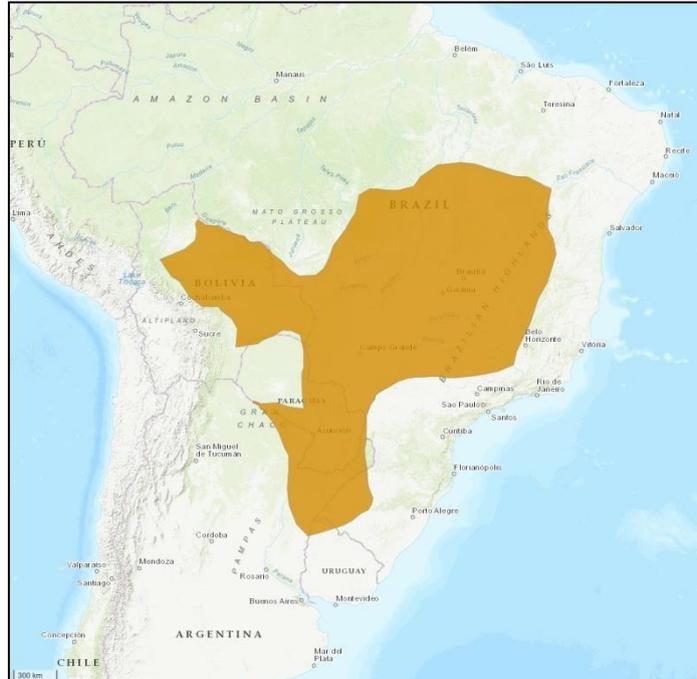


Figura 3. Mapa de distribución de *A. caraya*. Fuente: UICN (Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza), 2020.

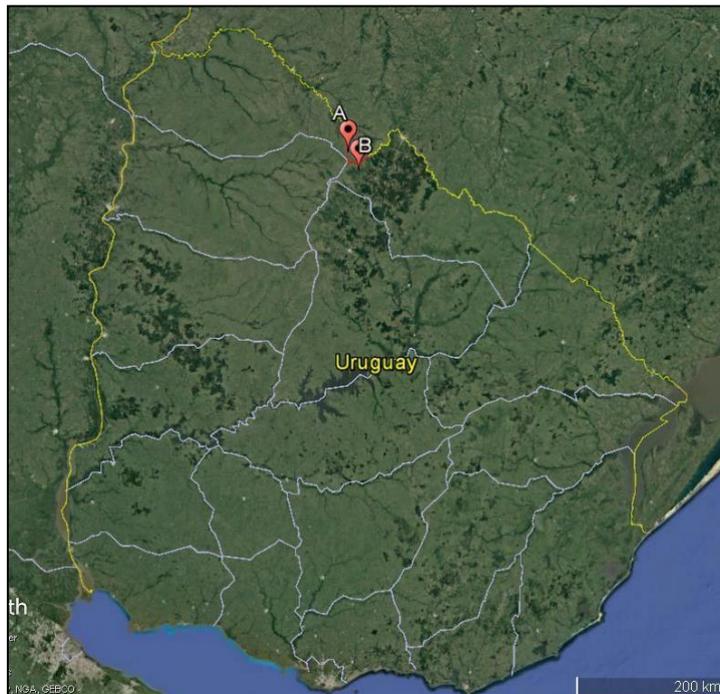


Figura 4. Mapa de Uruguay mostrando los registros de *A. caraya* en el país. (A) Reporte de Villalba y col, 1995. (B) Reporte de Jardim y col., 2019.

A pesar del amplio rango de distribución que abarcan, su presencia en numerosas reservas naturales y en varios países, el actual estatus de conservación de *A. caraya* según la Lista Roja de la UICN es Casi amenazado. Si bien en anteriores publicaciones de la UICN (1996, 2003, 2008) se categorizaba como Preocupación Menor, esta situación cambió para el año 2020. Es de suponer que en 36 años (2004-2040), los Carayá sufrirán una reducción del 25-30% de su población a consecuencia de la pérdida de hábitat, presión de caza y la susceptibilidad a brotes de enfermedades como la fiebre amarilla (Bicca-Marques y col., 2020).

En relación a esto, los aulladores tienen un rol fundamental para la salud pública como centinelas epidemiológicos. La masiva mortandad de individuos en brotes de fiebre amarilla proporciona una alerta temprana a las autoridades sanitarias sobre la necesidad de vacunar a la población humana (Bicca-Marques y col., 2010; Holzmann y col., 2010; Almeida y col., 2012).

Los carayá, también juegan un importante rol ecológico en la dispersión de semillas para muchas especies vegetales, contribuyendo en la regeneración y modelación de los bosques que habitan (Bravo y Zunino, 2000; Bravo y Sallenave, 2003; Fergnani y col., 2020).

## **2. II. GENERALIDADES DE LAS NEOPLASIAS LINFOIDES**

En medicina veterinaria, el estudio de las neoplasias está mayormente vinculado a los pequeños animales (perros y gatos), por el hecho de ser animales de compañía cuya expectativa de vida ha aumentado en los últimos años, siendo más frecuente la aparición de malignidades. Esto ha obligado a los veterinarios a lidiar e investigar el cáncer en las mascotas, existiendo más información disponible en caninos y felinos (Withrow, 2007). Es por esto, y porque muchos aspectos de las neoplasias en primates permanecen sin desarrollar, es que en esta sección sobre las neoplasias linfoides, se pasará a describir la enfermedad de manera general, pero tomando como referencia a los pequeños animales domésticos.

Las neoplasias linfoides comprenden un grupo variado de tumores originados en los linfocitos B, linfocitos T y linfocitos citolíticos naturales (natural killers) (Kumar y col., 2015). Según la distribución tisular de la neoplasia, se denomina linfoma, cuando la proliferación surge como una masa tisular delimitada, y leucemia cuando se ve afectada la médula ósea y ocasionalmente la sangre periférica. Actualmente, no se consideran entidades patológicas distintas, ya que pueden darse patologías con ambas presentaciones, por lo que la diferente terminología se limita a reflejar la presentación tisular de la enfermedad al momento de inicio del cuadro (Kumar y col., 2015).

En medicina humana, los linfomas se dividen en Linfoma de Hodgkin (LH) y Linfoma de no Hodgkin (LNH). El LH tiene una característica morfológica distintiva, que no se presenta en los LNH y es la presencia de unas células gigantes neoplásicas denominadas células de Reed-Sternberg que derivan de los Linfocitos B. Es poco frecuente y su presentación clínica también difiere de los LNH (Kumar y col., 2015).

En veterinaria, a pesar de haber reportes de LH en gato, la vasta mayoría de los linfomas se asemejan a los linfomas no hodgkinianos en humanos y simplemente se los conoce como linfoma o linfoma maligno (Valli y col., 2015).

Tanto en humanos como en caninos, el LNH es una de las neoplasias más frecuentes. En las personas, se posiciona en el séptimo lugar en frecuencia, representando el 4.3% de los casos nuevos de cáncer anuales (Howlader y col., 2012). En los canes, el linfoma representa 7- 24 % de todas las neoplasias caninas y el 83% de las neoplasias hematopoyéticas (Kaiser, 1981; Harvey, 1990). Además, en ambas especies, coincide el subtipo de presentación más frecuente, siendo el linfoma difuso de células B grandes (Seelig, 2016).

En felinos, ocurre un escenario similar, ya que la prevalencia del linfoma, también es alta. Es la neoplasia hematopoyética más común de los gatos, y representa aproximadamente un tercio de todos los tumores. Previo a la década del noventa, el virus de la leucemia felina (ViLeF) era un factor de riesgo muy importante para el desarrollo de leucemia y linfoma en estos animales y estaba muy relacionado a su presentación. Sin embargo, si bien en los últimos años, la incidencia de ViLeF ha disminuido gracias a la vacunación, la incidencia del linfoma felino no ha decrecido y continúa siendo una enfermedad relevante en la oncología veterinaria (Louwerens y col., 2005).

## **2. II.1 Clasificación de neoplasias linfoides**

Históricamente, la clasificación de las neoplasias linfoides ha sido objeto de gran controversia entre la comunidad científica. Actualmente la clasificación que rige es la elaborada en 2008 por la Organización Mundial de la Salud (OMS) y revisada posteriormente en 2016. Ésta clasifica a los linfomas según las características morfológicas, inmunofenotípicas, genotípicas y clínicas, distinguiendo 5 categorías generales dependiendo de la célula de origen:

1. Neoplasias de precursores de linfocitos B.
2. Neoplasias de linfocitos B periféricos
3. Neoplasias de precursores de linfocitos T
4. Neoplasias de linfocitos T y linfocitos citolíticos naturales periféricos
5. Linfoma de Hodgkin (neoplasias de células de Reed-Sternberg)

Esta clasificación de la OMS se adapta para su uso en animales (Valli y col., 2015). Dentro de estas 5 categorías existen cerca de 50 subtipos, lo cual excede detallar en la revisión del presente trabajo.

Otras clasificaciones complementarias que han resultado útiles son el sistema de clasificación de Kiel y la formulación Working (Working Formulation) del Instituto Nacional del Cáncer (INC), las cuales se basan en los índices de mitosis, el tamaño y la forma celular para clasificar a los linfomas en diferentes grados según su comportamiento biológico. El sistema de la Working Formulation se basa en la arquitectura tumoral (difuso vs. folicular) y el tipo celular, pero no incluye el inmunofenotipo. El sistema de Kiel, incorpora la morfología (centroblástico, centrocítico, inmunoblástico) y el inmunofenotipo (Tabla 2).

**Tabla 2.** Clasificación de los linfomas según Kiel y la Working Formulation del INC, modificado de Ettinger, 2003.

<b>Grado</b>	<b>Working Formulation</b>	<b>Clasificación de Kiel</b>
<b>Bajo</b>	Celulas linfocíticas pequeñas Folicular células pequeñas hendidas Folicular células mixtas hendidas	Linfociticas Linfoplasmociticas Centrocítricas
<b>Intermedio</b>	Folicular grandes células Difuso células pequeñas hendidas Difuso células mixtas pequeñas y grandes Difuso células grandes	Centroblásticas centrocíticas
<b>Alto</b>	Difuso inmunoblastico Difuso linfoblastico Difuso células pequeñas no hendidas	Centroblasticos Linfoblastico células T Linfoblastico células B Inmunoblástico

## 2. II.2 Características clínicas de los linfomas

Los linfomas comúnmente se han clasificado de acuerdo a su localización anatómica. En perros y gatos se reconocen cuatro presentaciones principales: la forma multicéntrica, la tímica o mediastínica, la forma alimentaria o gastrointestinal y la presentación extranodal, que afecta cualquier órgano o tejido (cutáneo, ocular, renal, neural) (Nelson y Couto, 2000). Con la clasificación de la OMS adaptada a medicina veterinaria que integra aspectos clínicos con morfología celular y características moleculares, esta clasificación anatómica pierde relevancia (Valli y col., 2015).

Aun así, los signos clínicos observados dependerán de la localización anatómica del tumor. La forma multicéntrica se caracteriza por linfadenopatía generalizada e indolora. En la mayoría de los casos no se observan signos de enfermedad sistémica, pero de presentarse, se puede observar anorexia, pérdida de peso, vómitos, diarrea, poliuria-polidipsia y fiebre. En algunas ocasiones el bazo y el hígado también se pueden ver afectados. Esta presentación es la más común en los caninos, representando el 80% de los linfomas en esta especie (Vail y Young, 2007). El linfoma intestinal o alimentario se presenta con vómitos, diarrea, anorexia, pérdida de peso y aumento de los linfonódulos mesentéricos. En los felinos, más de la mitad de los casos de linfoma corresponden a esta presentación (Nelson y Couto, 2000).

Los linfomas mediastínicos, se presentan con tos, disnea y síndrome caval. En la presentación extranodal, los signos dependerán del órgano afectado. Las localizaciones extranodales más comunes en caninos son los linfomas cutáneos y oculares. En felinos se puede observar más frecuentemente la localización nasofaríngea, ocular, renal y neural (Nelson y Couto, 2000). El síndrome poliuria-

polidipsia suele observarse como consecuencia de una hipercalcemia neoplásica (Valli y col., 2015).

### **2. II.3 Diagnóstico de linfoma**

Ante la sospecha de linfoma, es importante realizar un examen físico completo, hemograma y bioquímica sérica. El diagnóstico definitivo de linfoma se realiza por citología e histología (Valli y col., 2015).

#### **a. Clínico**

Como se expresó anteriormente, la sintomatología clínica dependerá del órgano afectado y la localización anatómica del tumor, por lo que los signos están relacionados a la obstrucción o compresión de los tejidos adyacentes y a la pérdida de función del órgano si las células neoplásicas desplazan a las células parenquimatosas.

#### **b. Análisis de laboratorio: Hematología y Bioquímica sérica**

La anemia, es el trastorno hematológico más comúnmente asociado al linfoma. Generalmente es normocrómica y normocítica, es decir no regenerativa (Welter, 1985). Puede presentarse tanto con linfopenia como con linfocitosis. La circulación de formas linfocitarias anormales puede indicar compromiso de la médula ósea y leucemia. En caninos se observa neutrofilia en un 25-40% de los casos de animales con linfoma (Madewell, 1986). Se puede observar hipoproteinemia en animales con linfoma alimentario.

La hipercalcemia maligna puede presentarse en algunos casos, debido a la secreción de un péptido tumoral relacionado a la hormona paratiroidea que estimula la resorción ósea (Goldner, 2016). En caninos, está más comúnmente asociada a linfomas mediastínicos (Madewell, 1986). Es extremadamente raro encontrar hipercalcemia paraneoplásica en los felinos (Nelson y Couto, 2000).

Los valores de urea y creatinina pueden aumentar secundariamente a la infiltración tumoral del riñón, nefrosis hipercalcémica o azotemia pre renal por deshidratación. Las enzimas hepáticas pueden elevarse en casos de infiltración del parénquima hepático (Vail y Young, 2007).

#### **c. Imagenología**

La evaluación torácica y abdominal por medio de radiografía y/o ultrasonografía pueden ser importantes para determinar el grado de compromiso de otros órganos internos como hígado, pulmón, bazo, etc. La radiografía puede revelar el aumento de los linfonódulos esternales, traqueobronquiales, infiltrados pulmonares o masas mediastínicas. La ultrasonografía es de utilidad para identificar cambios en la ecogenicidad de los órganos parenquimatosos, así como el aumento de los nódulos linfáticos mesentéricos y anomalías en las paredes gastrointestinales. A su vez es útil para guiar la toma de muestras por PAAF. En el caso de caninos con linfoma

multicéntrico, aproximadamente un 60-75% de los animales presenta anomalías en las radiografías abdominales o torácicas (Vail y Young, 2007). Los felinos con linfoma alimentario, presentan anomalías ecográficas en un 90% de los casos, pudiendo observarse linfadenopatía mesentérica, masas intestinales o adelgazamiento de la pared, esplenomegalia, hepatomegalia o efusión abdominal (Mahony y col., 1995).

#### d. Histopatología y citología

El diagnóstico definitivo de linfoma se realiza por citología e histología. Una muestra histológica que sea representativa del proceso patológico es muy importante, ya que la determinación de la arquitectura tisular, el tamaño celular y el índice de mitosis forma parte del proceso para alcanzar un correcto diagnóstico (Valli y col., 2015).

La OMS, establece guías para la clasificación en muestras histológicas que enfatizan tres características: la arquitectura tumoral, la morfología celular de las células tumorales (tamaño, forma, características citoplasmáticas y del núcleo) y la actividad mitótica. De acuerdo a la arquitectura tumoral se puede establecer si la patología presenta un patrón difuso o nodular/folicular. En el primer caso, toda o casi toda la arquitectura ganglionar aparece infiltrada por células neoplásicas, mientras que en los linfomas foliculares, se encuentran porciones del tejido ganglionar con infiltración neoplásica que se presenta de manera organizada.

Citológicamente, las células tumorales se clasifican de acuerdo a si son pequeñas, intermedias o grandes. Para determinar esto se compara el tamaño del núcleo de la célula tumoral en relación a una medida estándar, tradicionalmente el tamaño de un glóbulo rojo o un linfocito normal pequeño. Finalmente, en base a características citoplasmáticas (volumen e intensidad de la tinción) y nucleares (forma, patrón de cromatina, características del nucléolo) y en conjunto con los datos aportados por la inmunofenotipificación puede establecerse un diagnóstico histológico final (Valli y col., 2015; Seelig y col., 2016; Boes y Durham, 2017).

#### *Punción aspiración con aguja fina (PAAF)*

La punción aspiración con aguja fina (PAAF) es una herramienta muy útil para la evaluación de los linfonódulos debido a su simplicidad, su bajo costo, seguridad, y por ser una técnica mínimamente invasiva. Combinada con la ultrasonografía, pueden obtenerse muestras de los órganos internos y nódulos mesentéricos. En los caninos, como la gran mayoría de los linfomas se presentan con una infiltración difusa de células grandes, la citología a partir de muestras obtenidas por PAAF está ampliamente aceptada como método diagnóstico para el linfoma. Tanto en humanos, como en medicina veterinaria, se considera una técnica de alta sensibilidad y especificidad para diferenciar procesos malignos de hiperplasias reactivas de los nódulos linfáticos (Sözmen y col., 2005; Seelig, 2016). La citología del linfoma, se caracteriza por una infiltración de linfoblastos que reemplazan las células normales del órgano afectado y los linfonódulos. Los linfoblastos pueden llegar a constituir un 50 % de la población celular del linfonódulo, siendo que normalmente, este valor no supera el 20% (Meza y García, 2014). El resultado de la PAAF es un primer paso hacia el diagnóstico del linfoma, y se continúa con estudios como la citometría de flujo y la inmunohistoquímica para la tipificación del linfoma (Seelig y col., 2016).

#### e. Inmunofenotipificación

La inmunofenotipificación se utiliza para determinar el tipo de células que componen el linfoma. Es una parte esencial en el diagnóstico de los linfomas, ya que en un correcto diagnóstico se basará el pronóstico y las posibilidades de tratamiento (Jennings y Foon, 1997). La inmunofenotipificación se puede efectuar mediante citometría de flujo o por inmunohistoquímica (IHQ). La ventaja de la citometría de flujo es que puede realizarse en muestras más pequeñas, mediante técnicas menos invasivas como la PAAF (Gibson y col., 2004). Por otro lado, la inmunohistoquímica tiene la ventaja sobre la citometría de flujo que la identificación de los grupos celulares puede realizarse en contexto con la arquitectura tisular y no se requiere de equipos especializados como requiere la citometría de flujo (Wilkerson y col., 2005).

Para diferenciar linfocitos B de los linfocitos T se utilizan marcadores específicos. Dicha diferenciación, se basa en que cada tipo celular expresa distintos antígenos celulares que se denominan con la sigla  $\overline{\text{CD}}\parallel$  (cluster de diferenciación). En medicina veterinaria, para la identificación de los linfocitos T, los marcadores más utilizados, son el CD3, CD4 y el CD8. Para la identificación de linfocitos B se utilizan los CD79, CD20, CD21 y Pax-5 (Vail y Young, 2007; Valli y col., 2015). Es importante considerar que en ocasiones, las células tumorales pueden resultar positivas para marcadores de linfocitos B y T simultáneamente, debiendo diferenciarse por ensayos de clonalidad (Wilkerson y col., 2005).

#### f. Evaluación de la clonalidad

La evaluación de la clonalidad es de utilidad en los casos en que no es posible diferenciar por criterios histológicos y citológicos las proliferaciones malignas (linfomas) de las proliferaciones linfocitarias benignas (hiperplasias reactivas). Teóricamente los linfocitos neoplásicos derivan de una única expansión clonal. Es decir, cuando un linfocito se transforma en una célula cancerosa que se divide descontroladamente, las células hijas poseerán en sus receptores de antígeno el mismo reordenamiento genético que la célula madre que los originó, contando con una región particular de ADN única para ese tumor. Por ejemplo, en caninos con linfoma de células T, todos los linfocitos tumorales deberían tener la misma secuencia de ADN en la región variable del gen receptor de células T (TCR). De la misma manera, animales con linfoma de células B, las células tumorales deberían tener una secuencia de ADN idéntica en la región variable del gen receptor de inmunoglobulinas. Sin embargo, en las linfocitosis reactivas, las células son policlonales para sus receptores antigénicos. Basándose en este principio, los investigadores han utilizado técnicas de PCR (reacción en cadena de la polimerasa) para el reordenamiento del receptor de antígeno (PARR) para amplificar las regiones variables de los genes de los receptores de las inmunoglobulinas y de los linfocitos T, y así identificar el origen clonal de la población linfocitaria (Vail y Young, 2007; Villamizar-Rivera y Olaya, 2015).

### **2. II. 4. Estadificación clínica del linfoma**

Luego de establecido el diagnóstico, debe determinarse el grado de la enfermedad, y relacionarse con el estado clínico del paciente. La OMS ha marcado criterios para

la estadificación de los linfomas. Dentro de los estadios establecidos que van del I al V, se reconocen dos subestadios que refieren a si el animal presenta o no signos de enfermedad sistémica. Para una completa estadificación, debería identificarse si existe compromiso de la médula ósea. Para esto se realiza un aspirado o biopsia a nivel del húmero proximal o de la cresta ilíaca. Este procedimiento está indicado en los casos que el paciente presenta anemia, linfocitosis o linfocitos atípicos en la circulación periférica. Debido a que se trata de una maniobra invasiva y cuyo resultado tiene un efecto limitado en el pronóstico y tratamiento, la punción o biopsia de la médula ósea no es un procedimiento de rutina (Vail y col., 2010). La imagenología, es otra herramienta útil, para evaluar si hay compromiso pulmonar o a nivel de órganos parenquimatosos como hígado o bazo. Los criterios propuestos por la OMS se resumen en el siguiente cuadro:

**Tabla 3.** Sistema de estadificación clínica de los linfomas en animales domésticos propuesto por la OMS. Modificado de Vail y Young, 2007.

<b>Estadio</b>	
<b>I</b>	Afectación de un solo nódulo linfático o tejido linfoide de un órgano (excepto médula ósea)
<b>II</b>	Varios nódulos linfáticos afectados, pero limitados a una región
<b>III</b>	Afectación de todos los nódulos linfáticos
<b>IV</b>	Hígado y/o bazo involucrados (con o sin estadio III)
<b>V</b>	Manifestación en sangre y compromiso de la médula ósea y/o otros órganos o sistemas (con o sin estadio I-IV de la enfermedad)
<b>Subestadio</b>	
<b>a</b>	Sin signos sistémicos
<b>b</b>	Con signos sistémicos

## 2. II. 5. Tratamiento del linfoma

La terapéutica a aplicar a un paciente con linfoma dependerá del tipo de linfoma que presente, la presencia o ausencia de enfermedad paraneoplásica, el estado corporal y la evaluación costo-beneficio para el paciente. El linfoma es casi siempre considerado una enfermedad sistémica por lo que requiere de una terapia sistémica para lograr la remisión y prolongar la sobrevida. Cabe aclarar que por remisión se entiende la resolución completa o parcial de los signos clínicos y de las alteraciones en los valores de laboratorio (Ettinger, 2003). Para el linfoma canino, la quimioterapia sistémica es el tratamiento de elección y puede acompañarse de radioterapia e inmunoterapia. En general, los protocolos quimioterápicos que utilizan combinaciones de drogas, son más efectivos que aquellos basados en una única droga. La experiencia en perros con linfoma, dice que si los animales no son sometidos a un tratamiento, la mayoría morirá en un período de a 4 a 6 semanas

(MacEwen y col., 1977).

#### a. Quimioterapia

En general, los protocolos quimioterapéuticos se dividen en distintas fases. La primera fase, la de *inducción*, tiene como objetivo lograr la remisión de la enfermedad y es la de mayor intensidad en las dosis y frecuencia de los tratamientos. Se sigue de una fase de *mantenimiento*, en la cual se disminuye la intensidad y se utilizan fármacos previamente utilizados en la etapa de inducción, pero con una frecuencia de administración menor. Tiene como objetivo mantener la remisión de la enfermedad y prolongar la supervivencia al incrementar el tiempo hasta la recaída. Por último, la fase de *rescate*, se utiliza para inducir una segunda remisión luego de una recaída, o cuando los fármacos utilizados previamente no lograron la remisión. Se emplean fármacos nuevos, que no se administraron en las etapas anteriores (Ettinger, 2003; Frimberger, 2007).

Los protocolos que combinan diferentes drogas consiguen remisiones más largas y una mayor supervivencia del paciente. Sin embargo, se debe tener en cuenta, que cuanto más compleja sea la combinación quimioterápica, será más cara y requerirá mayor control veterinario, aumentando la posibilidad de generar toxicidad en el paciente (Vail y Thamm, 2007).

La mayoría de los protocolos de primera línea utilizados en veterinaria para el tratamiento de linfoma son modificaciones del protocolo CHOP|| inicialmente designado para el tratamiento de pacientes oncológicos humanos. La sigla hace referencia a las drogas administradas: ciclofosfamida (C), doxorubicina (H, por hidroxildaunorrubicina), vincristina (O, Oncovin®) y P (prednisolona). En caninos, se produce la remisión completa en un 60-90% de los casos, con una sobrevida media de 6 a 12 meses (Simon y col., 2006). Solo un 20-25% de los casos, sobreviven 2 o más años (Vail y Thamm, 2007). La frecuencia y duración del tratamiento, dependen del médico veterinario actuante. Algunos protocolos han incorporado al CHOP, la administración de L- Asparaginasa, una enzima bacteriana derivada de *Escherichia coli* que interferiría con la síntesis de proteínas y ADN de las células tumorales, llevándolas a la muerte. Sin embargo, muchos estudios han confirmado que la adición de la L-ASP en los protocolos de inducción no tendrían relevancia clínica en la tasa de remisión ni en la duración de la misma, por lo que su uso es mejor reservarlo para protocolos de rescate (Garret y col., 2002; Jeffreys y col., 2005; MacDonald y col., 2005).

El fármaco que se ha utilizado con mayor éxito en protocolos monodroga, es la doxorubicina, que se administra por vía intravenosa cada 3 semanas, en 5 tratamientos. El 75-80% de los casos en caninos responde positivamente, logrando una sobrevida de 5-7 meses. Como ventaja frente a protocolos multidroga, resalta el ser más económico, requerir menos tiempo y menos traslados al centro hospitalario (Vail y Thamm, 2007). La monoterapia con prednisona, resulta una buena alternativa cuando existen limitantes económicas o de otro tipo para los propietarios de los animales, ya que pueden obtenerse remisiones cortas de 1 a 2 meses utilizando una dosis de alta (2 mg/kg, una vez al día). Sin embargo, es importante considerar, que si posteriormente decidiera realizarse una quimioterapia multidroga más agresiva, la administración previa de prednisona puede ocasionar mayor resistencia

farmacológica y menor supervivencia (Vail y Young, 2007).

Los protocolos CHOP también se utilizan para el tratamiento de linfomas en felinos, pero en general, éstos no presentan una respuesta tan buena como los perros. La respuesta completa se da en el 50-75% de los casos y la supervivencia va de 4-8 meses. Sin embargo, aquellos que responden completamente a la quimioterapia, pueden tener una sobrevida mayor a 2 años. Los gatos con linfoma alimentario de bajo grado pueden responder positivamente a protocolos orales con clorambucilo y prednisolona (Vail y Thamm, 2007).

#### *Protocolos de rescate*

La gran mayoría de los animales con linfoma sufrirán recaídas. En primera instancia, puede tratarse la reinducción con el protocolo utilizado al inicio de la enfermedad y con el cual se logró la primera remisión. Sin embargo, el éxito de la reinducción se da en la mitad de los casos. De fallar, se debe iniciar una terapia de rescate, donde en general no se utilizan drogas o combinaciones de drogas que se utilizaron para la inducción. Por mencionar algunas drogas, la lomustina se reserva para protocolos de rescate monodroga (Moore y col., 1999), así como la mecloretamida y la procarbazona se han utilizado junto a la prednisolona y la vincristina en el protocolo denominado MOPP (Rassnick y col., 2002). En general, las respuestas no son duraderas, con tiempos de remisión de 1-2 meses. (Vail y Thamm, 2007).

#### b. Inmunoterapia

La inmunoterapia se utiliza en el tratamiento de neoplasias de linfocitos B en humanos. El uso de Rituximab ha mejorado la respuesta y supervivencia en los pacientes con linfoma de no Hodgkin de linfocitos B. Se trata de un anticuerpo monoclonal que actúa sobre el CD20, una proteína expresada por más del 99% de los linfomas de células B. El protocolo CHOP, combinado con el Rituximab (R-CHOP) demostró tener gran eficacia en el tratamiento de linfomas foliculares y difusos en las personas (Coiffier, 2007). La información disponible, indica que su papel en el tratamiento de los linfomas caninos, todavía es limitado, por lo que se está buscando desarrollar nuevos anticuerpos CD20 que sean eficientes para su uso en estas mascotas (Ito y col., 2015).

### **2. II.6. Pronóstico**

Los dos factores más relacionados al pronóstico en perros son el inmunofenotipo y el subestadio de la clasificación de la OMS. Los perros con tumores derivados de linfocitos T tienen peores respuestas al tratamiento que los que presentan linfomas de células B. Por otro lado, los animales que presentan signos de enfermedad sistémica, tienen una respuesta más pobre que aquellos que no se presentan con enfermedad sistémica al momento del diagnóstico (Vail y Young, 2007).

A su vez, los linfomas de grado intermedio o alto, tienden a responder a la quimioterapia, pero las recaídas suceden más tempranamente. Por su parte, los linfomas de bajo grado, no responden bien a la quimioterapia, pero tienen una sobrevida más larga que los anteriores (Teske y col., 1994).

En felinos, la situación es distinta en relación al inmunofenotipo, ya que no se ha

determinado que los linfomas de células T estén asociados a pronósticos negativos. Igualmente, en esta especie, es difícil realizar pronósticos, dada la gran variabilidad en la frecuencia y heterogenicidad de formas anatómicas que presentan. El linfoma alimentario, el más común en estos animales, tiene una sobrevivencia media de 7-10 meses con protocolos quimioterápicos que incluyan doxorubicina (Vail, 2007).

## 2. III. NEOPLASIAS EN PRIMATES NO HUMANOS

Las neoplasias en primates siempre despertaron gran interés debido a las semejanzas anatómicas y fisiológicas de estos animales con los humanos (Beniashvili, 1989).

Hasta la mitad del siglo XX, se consideraba que las neoplasias eran enfermedades infrecuentes en los monos y la mayoría de las publicaciones vinculadas al tema se limitaban a una descripción de casos aislados. Esta suposición estaba vinculada al hecho que no había gran cantidad de monos bajo supervisión veterinaria o que fueran objeto de estudio de anatomopatólogos (Lapin y Yakovleva, 2014). Si bien miles de primates eran mantenidos en zoológicos, centros de investigación y laboratorios de producción de vacunas (como poliomielitis), los reportes eran escasos (Beniashvili, 1989).

Sin embargo, se debe considerar que en ese momento las poblaciones de primates mantenidos en cautiverio no tenían gran expectativa de vida y aquellos utilizados en la producción de vacunas eran ejemplares jóvenes, donde los tumores no son tan comunes (Beniashvili, 1989; Lapin y Yakovleva, 2014).

En la segunda mitad del siglo XX, empezó a ser más frecuente que se analizaran los registros en los centros primatológicos y laboratorios, lo cual cambió considerablemente la impresión acerca de los tumores en primates. A su vez, a medida que aumentaba la edad de las poblaciones en cautiverio, los reportes de neoplasia se hicieron más usuales ( McClure, 1980; Lapin, 1982; Lowenstine, 1986; Beniashvili, 1989; Remick, 2009; Simmons y Mattison, 2011).

Distintos tipos de tumores con diferente localización y carácter histológico han sido descritos para primates del Viejo y del Nuevo Mundo. Actualmente se cuenta con varias revisiones bibliográficas que recopilan información acerca de las neoplasias y desórdenes proliferativos en los primates no humanos (Lowenstine, 1986; Beniashvili, 1989; Miller, 2012; Lapin y Yakovleva, 2014). No obstante, existe poca información acerca del manejo clínico de las neoplasias en primates no humanos (Miller, 2012).

Según la revisión de Lapin y Yakovleva (2014), la neoplasia maligna más frecuente para todas las especies de primates estudiadas es la neoplasia de los órganos hematopoyéticos: linfomas y leucemias. Hay numerosas publicaciones que describen la ocurrencia de linfomas y leucemia en monos de diferentes géneros como *Macaca* (macacos), *Pan* (chimpancés), *Gorilla* (gorilas), *Hylobates* (gibones), *Papio* (babuinos), *Callithrix* (marmosetas), *Saimiri* (monos ardilla) y *Aotus* (micos nocturnos) (Stowell y col., 1971; Page y col., 1974; Schneider, 1975; Terrell y col., 1980; Kirkwood y James, 1983; Holmberg y col., 1985; Bin hazim y col., 1997; Cianciolo y Hubbard, 2005; Suzuki y col., 2005; Hirata y col., 2013).

## 2. III.1 Linfoma en primates no humanos

La alta prevalencia de linfoma en primates, está relacionada al hecho de que en la gran mayoría de los casos la enfermedad se asocia a infecciones virales (Miller, 2012). Diversos tipos de herpesvirus se han identificado en el desarrollo de enfermedad linfoproliferativa en *Aotus*, *Callithrix*, *Saguinus*, *Ateles*, *Alouatta* y *Macaca* (Meléndez y col., 1970; Wolfe y col., 1971; Rangan y col., 1976; Rosenwirth, 2011). Algunos retrovirus, también han sido asociados al linfoma (Miller, 2012).

Para contextualizar, es importante entender el comportamiento de estos virus en primates.

### ***Herpesvirus en primates no humanos***

Los herpesvirus son virus ADN pertenecientes a la familia *Herpesviridae*. Dentro de ésta, se distinguen tres subfamilias: *Alphaherpesvirinae*, *Betaherpesvirinae* y *Gammaherpesvirinae*, las cuales poseen características biológicas particulares. (Roizman, 1996). Dentro de los alphaherpesvirus, destaca por su potencial zoonótico, el Herpes B de los macacos (hospedadores naturales), los cuales por lo general no desarrollan sintomatología clínica. Sin embargo, la transmisión accidental a los humanos produce parálisis ascendente, encefalitis y muerte en un 70% de los casos (Huff y col., 2003). De todas maneras, la subfamilia que interesa a esta revisión bibliográfica por su potencial oncogénico, es la de los gammaherpesvirus por lo que se describirán sus principales características.

### *Gammaherpesvirinae*

Esta subfamilia, incluye dos géneros: *Lymphocryptovirus* y *Rhadinovirus*.

#### ○ *Lymphocryptovirus*

Los linfocriptovirus comprenden más de 50 tipos de virus diferentes que han sido aislados en primates del Viejo y del Nuevo Mundo (Ehlers y col., 2009). Todos ellos están relacionados genéticamente al virus de Epstein Barr (EBV), el primer virus con propiedades oncogénicas que se identificó en los humanos (Epstein y col., 1964). Comparten propiedades biológicas comunes como la capacidad de transformar el crecimiento de los Linfocitos B *in vitro*, una alta prevalencia de infección en el hospedador natural, evasión inmunitaria, infección persistente y el potencial de transformación oncogénica *in vivo* (Cho y col., 2001). Al igual que en las personas, la infección generalmente es asintomática y la seroprevalencia de LCV en primates del Viejo Mundo es muy alta con hasta un 95% de animales adultos seropositivos en algunas poblaciones (London y Malan, 1971; Jenson y col., 2002; Rao y col., 2000).

En animales inmunosuprimidos, especialmente en macacos infectados con el virus de la inmunodeficiencia simia (SIV), la infección con LCV puede progresar hacia un linfoma maligno, similar al desarrollo del linfoma de No Hodgkin observado en humanos con HIV. Una vez inmunosuprimidos por el SIV, los animales infectados con LCV desarrollan linfadenopatía periférica seguido de linfoma multiorgánico. Los sitios más comunes de desarrollo de linfoma en macacos son la cavidad nasal, tejido periorbital, tracto gastrointestinal y riñones. En general se origina en los linfocitos B (Carville y Mansfield, 2008; Marr-Belvin y col., 2008).

La infección con LCVs se identificó primero en primates del Viejo Mundo debido a reacciones cruzadas de anticuerpos con EBV, existiendo reportes en chimpancés (Landon y col., 1968), babuinos (Vasiljeva y col., 1974), orangutanes (Rasheed y col., 1977), gorilas (Neubauer y col., 1979). Más adelante se identificaron linfocriptovirus asociados a tumores linfoides en varias especies de macacos (Rangan y col., 1986; Li y col., 1994; Wutzler y col., 1995; Moghaddam y col., 1997; Rivadeneira y col., 1999; Rivailler y col., 2002).

Por mucho tiempo, se creyó que la infección con LCVs no ocurría naturalmente en primates del Nuevo Mundo, dado que no existía evidencia suficiente de que hubiera reacción cruzada de anticuerpos para EBV en estas especies (Fogg y col., 2005). Sin embargo, en el año 2000, un grupo de investigadores identificó por PCR un nuevo gammaherpesvirus en tumores de marmosetas que murieron debido a un brote espontáneo de enfermedad linfoproliferativa en el Centro Regional de Investigación de Primates de Wisconsin (WRPRC) (Ramer y col., 2000). Esto fue confirmado, por Cho y col., (2001) que secuenciaron el genoma y encontraron que el agente viral (*Callitrichine herpesvirus 3*) tenía propiedades biológicas similares al EBV y demostraron que los herpesvirus relacionados a EBV eran endémicos también en los primates del Nuevo Mundo.

Hasta el momento no se conoce que los linfocriptovirus simios tengan potencial zoonótico (Mätz-Rensing y Lowenstine, 2018).

- *Rhadinovirus*

Los rhadinovirus que revisten importancia para este trabajo son los encontrados en primates americanos: *Herpesvirus saimiri* y *Herpesvirus ateles*. Son comúnmente asintomáticos en sus hospedadores naturales los monos ardilla (*Saimiri sciureus*) y monos araña (*Ateles geoffroyi*) respectivamente. Se estima que el 95% de los monos ardilla adultos son seropositivos al *H. saimiri* (Mätz-Rensing y Lowenstine, 2018) y aproximadamente el 50% de los monos araña son seropositivos a *H. ateles*. La inoculación experimental con *H. saimiri* a micos nocturnos (*Aotus sp.*), calitricidos (*Saguinus sp.* y *Callithrix sp.*), monos aulladores (*Alouatta sp.*) y monos araña (*Ateles sp.*) resulta en el desarrollo de linfoma o leucemia linfocítica de presentación aguda. La transmisión natural de la infección se ha reportado también en zoológicos. Si bien el *H. saimiri* ha sido estudiado más extensivamente, el *H. ateles* parece tener propiedades oncogénicas similares (King y col., 2001). Tampoco se registra potencial zoonótico para estos virus (Mätz-Rensing y Lowenstine, 2018).

### **Retrovirus en primates no humanos**

Los retrovirus, de la familia *Retroviridae*, son virus ARN que se caracterizan por producir infecciones persistentes durante toda la vida del hospedador, activa o latente, patológica o subclínica. El grado de patogenicidad está relacionado al hospedador, el virus, y el ambiente. Las infecciones retrovirales en simios se han asociado a neoplasia e inmunosupresión (Lowenstine y Lerche, 1988).

Los retrovirus simios cobraron importancia desde que se descubrió que el HIV tuvo origen zoonótico a través de la transmisión interespecie del SIV (virus de la inmunodeficiencia simia) de *Pan troglodytes* y *Cercocebus atys* al humano (Hahn y

col., 2000; Peeters y col., 2002; Apetrei y col., 2004). De manera similar, se ha demostrado que el HTVL (virus linfotrópico de células T humanas) se originó por transferencia inter especie del STVL (virus linfotrópico de células T simio) (Wolfe y col., 2006). El STVL ha sido asociado a enfermedad linfoproliferativa en primates, por lo que se comentará brevemente algunas características.

### Virus linfotrópico de células T simio (STVL)

El STVL tiene como hospedadores naturales a varias especies de monos africanos y asiáticos, incluyendo los grandes simios. Es endémico tanto en poblaciones de vida libre como en cautiverio (Daniel y col., 1988; Lowenstine y col., 1992). La prevalencia es muy variable, desde 0 a 80% en algunas poblaciones y aumenta con la edad (Fultz, 1994). No se ha encontrado en poblaciones de primates neotropicales, aunque está descrita la infección experimental en calitricidos y monos ardilla. Posee un fuerte tropismo celular para linfocitos T CD4+ y CD8+ (Fultz, 1994; Souquiere y col., 2009). La trasmisión natural se da por transferencia de linfocitos T infectados por vía venérea o por leche, de madres infectadas a sus crías (Fultz, 1994). d' Offay y col., (2007) reportaron la transmisión a través de la exposición de la mucosa oral con sangre infectada durante peleas entre congéneres.

La mayoría de las infecciones con STVL pasan clínicamente desapercibidas. En una pequeña proporción de casos, los primates desarrollan enfermedad clínica, que se presenta como linfoma de células T o enfermedad linfoproliferativa, leucemia, linfadenopatía, lesiones dérmicas generalizadas y esplenomegalia (Lowenstine y Lerche, 1988; Fultz, 1994; Murphy y col., 2006). La enfermedad asociada a STVL se ha observado únicamente en especies de primates africanos y se caracteriza por una linfocitosis persistente con formas linfocíticas anómalas. También, produce una respuesta persistente y exacerbada de los linfocitos T, que aumentan la producción de citoquinas.

#### **A. Enfermedad linfoproliferativa en primates del Viejo Mundo**

Existen varios reportes de enfermedad linfoproliferativa en colonias de primates del Viejo Mundo.

Cienciolo y col., (2007) publicaron el registro que realizaron durante 15 años de la ocurrencia de tumores en una colonia de 4000 babuinos (*Papio anubis*) del Centro Nacional de Investigación de Primates del Suroeste, en San Antonio, USA. Durante ese período registraron 363 casos de neoplasia, de las cuales 171 casos fueron malignas siendo 98 casos linfosarcomas. Previamente, Hubbard y col., (1993) habían estudiado esta población. Para ese momento contaba con unos 3200 animales y el 40% de ellos resultó positivo al STVL-1. Se realizó también serología a 27 animales que habían muerto de linfoma, resultando todos ellos positivos al STVL-1.

En 1967, en el Centro de Investigación de Primates de Sujumi (Georgia) se dio un brote de linfoma de No Hodgkin en una colonia de monos hamadrya (*Papio hamadryas*) luego de que un pequeño grupo fuera inoculado con sangre de pacientes humanos con leucemia. Durante el brote, de unos 2000 animales, 408 ejemplares murieron a lo largo de varios años con enfermedad linfoproliferativa.

Otras especies del mismo centro también fueron afectadas por esta patología (*P. anubis*, *Mandrill*, *Gelada*). La enfermedad se transmitió de forma horizontal, luego de que babuinos linfomatosos estuvieran en contacto con animales sanos. Se pudo establecer que la introducción de sangre humana leucémica en los hamdryas, llevó a la activación de sus propios virus linfotrópicos, los cuales están muy extendidos en estos animales. Dos virus, el STVL-1 y un herpesvirus similar al EBV, que fue designado como HVP (*herpesvirus papio*) lograron ser aislados de los animales enfermos (Yakovleva, 1970; Lapin, 1973; Lapin, 1975; Neubauer y col., 1979; Schätzl y col., 1993; Lapin y Yakovleva, 2014).

Otro brote de linfoma enzoótico se registró en un grupo de *Macaca mulatta* del centro de Investigación de Primates de California, USA. Entre los años 1969 y 1977 un total de 45 animales murieron a causa de linfoma maligno. En el mismo centro, en el mismo período otros 6 ejemplares de *Macaca arctoides*, murieron por la misma causa (Terrell y col., 1980).

También, existen registros de brotes en monos gibones (*Hylobates* sp.) de dos colonias diferentes. Uno de ellos ocurrió en Bangkok, en el Laboratorio de SEATO y el otro se dio en el Centro Médico de California, en San Francisco. En parte de los casos, la enfermedad tenía similitudes con la presentación de linfoma o con la leucemia mieloide crónica de los humanos. En esa ocasión pudo aislarse de los animales enfermos y de animales seropositivos, un retrovirus tipo C que fue nombrado  $\overline{\text{GALV}}$ , haciendo referencia a *Gibbon Ape Lymphoma Virus*. Los virus aislados apenas difirieron uno del otro en sus características moleculares y biológicas (Johnsen y col., 1971; Kawakami y col., 1972; Kawakami y col., 1980).

Ikpatt y col., 2014, reportaron un caso de linfoma difuso de linfocitos B en un orangután de 8 años (*Pongo pygmaeus*) del zoológico de Miami. El cuadro se presentó con un breve historial de pérdida de peso, apetito disminuido, letargia, distensión abdominal, constipación y dolor abdominal a la palpación. Una tomografía computarizada reveló obstrucción parcial del 90% de la luz del yeyuno, por lo que se intervino quirúrgicamente y se analizaron las muestras obtenidas del intestino por histopatología e inmunohistoquímica. El diagnóstico confirmó un infiltrado de grandes células linfoides tumorales, que reaccionaron positivamente al marcador CD20, por lo que se identificaron como linfocitos B, y clasificándose como un linfoma difuso de células B grandes. La serología resultó positiva para EBV y la tinción para Epstein-Barr Virus por hibridización in situ (ISH) de los preparados también resultó positiva. Se realizó tratamiento quirúrgico, removiendo la porción de yeyuno afectada y se realizó inmuno-quimioterapia utilizando una modificación del protocolo R-CHOP (rituximab, ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina y prednisona) a una dosis del 75% de la administrada a pacientes humanos dado el desconocimiento respecto a la tolerancia de los primates a estas drogas. El animal respondió bien al tratamiento combinado de quimio-inmunoterapia y 2 años después de culminado el tratamiento permanecía en buen estado de salud y sin signos de la enfermedad.

## **B. Enfermedad linfoproliferativa en primates del Nuevo Mundo**

En lo que respecta a los primates del Nuevo Mundo, está bien estudiado que los calitricidos (marmosetas y tamarinos) son extremadamente susceptibles a la inducción experimental de tumores por herpesvirus nativos de otras especies de

primates. Meléndez y col., (1968) descubrieron al *Herpesvirus saimiri* al aislarlo de cultivos de tejido renal de monos ardilla (*Saimiri sciureus*). No se pudo comprobar que este virus produjera enfermedad clínica en monos ardilla seropositivos, y tampoco la inoculación experimental del *Herpesvirus saimiri* en estos animales generó una respuesta patológica. Sin embargo, más adelante se demostró que la inoculación experimental con *H. saimiri* en marmosetas (*Saguinus spp*), micos nocturnos (*Aotus trivirgatus*), monos araña (*Ateles geoffroyii*), monos capuchinos (*Cebus spp*), y monos aulladores (*Alouatta sp.*) producía neoplasia del sistema linfático de rápido desarrollo (Meléndez y col., 1970; Deinhardt y col., 1974; Rangan y col., 1977). Una situación similar sucedió con el *Herpesvirus ateles* de los monos araña.

El cuadro clínico y la patología de estos dos herpesvirus en marmosetas y tamarinos, está bien descrito por Hunt y col., (1970). Los animales desarrollan hepatoesplenomegalia y aumento generalizado de los nódulos linfáticos. Como síntomas clínicos se observa inactividad, debilidad, rechazo al alimento, letargia y linfadenopatía progresiva. Ambos Herpesvirus se han aislado de linfomas espontáneos (no inducidos experimentalmente) tanto en marmosetas como en micos nocturnos, por lo que se recomienda que en los zoológicos y los centros de investigación estos primates estén separados de los monos araña y los monos ardilla (Hunt y col., 1973; Page y col., 1974; Anzil y col., 1977; Barahona y col., 1975; Mätz-Rensing y Lowenstine, 2018).

Como se expresó anteriormente, hasta el año 2000 se creía que los primates neotropicales, no eran naturalmente susceptibles a la infección por linfocriptovirus. Sin embargo, estaba demostrado ampliamente que la inoculación con EBV en marmosetas y micos nocturnos producía neoplasia del sistema linfático (Epstein y col., 1973; Shope y col., 1973; Falk y col., 1976; Ablashi y col., 1983; Johnson y col., 1983). Lo novedoso del reporte de Ramer y col., (2000) radicó en el hecho de que el brote en el Centro Regional de Investigación de Primates de Wisconsin (WRPRC) ocurrió de manera espontánea y no a partir de la inoculación experimental de los animales. Hasta el momento no existían registros de este suceso ni en laboratorios ni en zoológicos. Dieciséis casos de enfermedad linfoproliferativa se dieron entre 1992 y 1996 en ejemplares adultos de *Callithrix jacchus*.

Los animales afectados desarrollaron un cuadro de pérdida de peso, inapetencia y diarrea. En muchos casos, se detectó una masa palpable en el abdomen medio, y varias marmosetas padecieron obstrucción intestinal. En dos casos se observó linfadenopatía periférica. Los resultados de hemograma y bioquímica sanguínea fueron variables, e incluyeron valores dentro de los parámetros normales y valores anormales como neutrofilia con desviación a la izquierda. Otros presentaron valores elevados de enzimas hepáticas. En todos los casos se realizó necropsia de los animales, siendo un hallazgo común un exagerado aumento de los linfonodos mesentéricos que se correspondía con las masas abdominales detectadas en forma clínica.

Se realizó estudio histopatológico de los nódulos mesentéricos, observándose que la arquitectura tisular normal presentaba infiltrados de células redondas neoplásicas heterogéneas, con pleomorfismo nuclear y uno o más nucléolos prominentes. El colon también se presentó infiltrado con un patrón celular similar al de los linfonodos mesentéricos que involucraba la lámina propia, la submucosa, la capa muscular y la

serosa. En algunas marmosetas se vio afectado de manera similar el yeyuno, duodeno y el íleon. También se pudo observar en algunos casos células neoplásicas en el hígado, riñón y pulmones. Las células fueron caracterizadas por inmunohistoquímica, utilizando marcadores CD20 (para linfocitos B), CD3 (para linfocitos T) y una proteína de membrana de EBV (LMP-1). La mayoría de los linfocitos infiltrados en el intestino se identificaron como Linfocitos B. En el bazo de algunos animales se identificaron células que reaccionaron al marcador para EBV. La confirmación de la vinculación del brote con un linfocriptovirus similar al EBV no identificado hasta el momento, se obtuvo por la extracción por PCR de ADN viral en los tumores de las marmosetas enfermas.

No todos los linfomas en primates del Nuevo Mundo han sido asociados a una infección viral, existen casos esporádicos de linfoma en tamarinos que parecen ser de origen espontáneo (Hofmann y col., 2001).

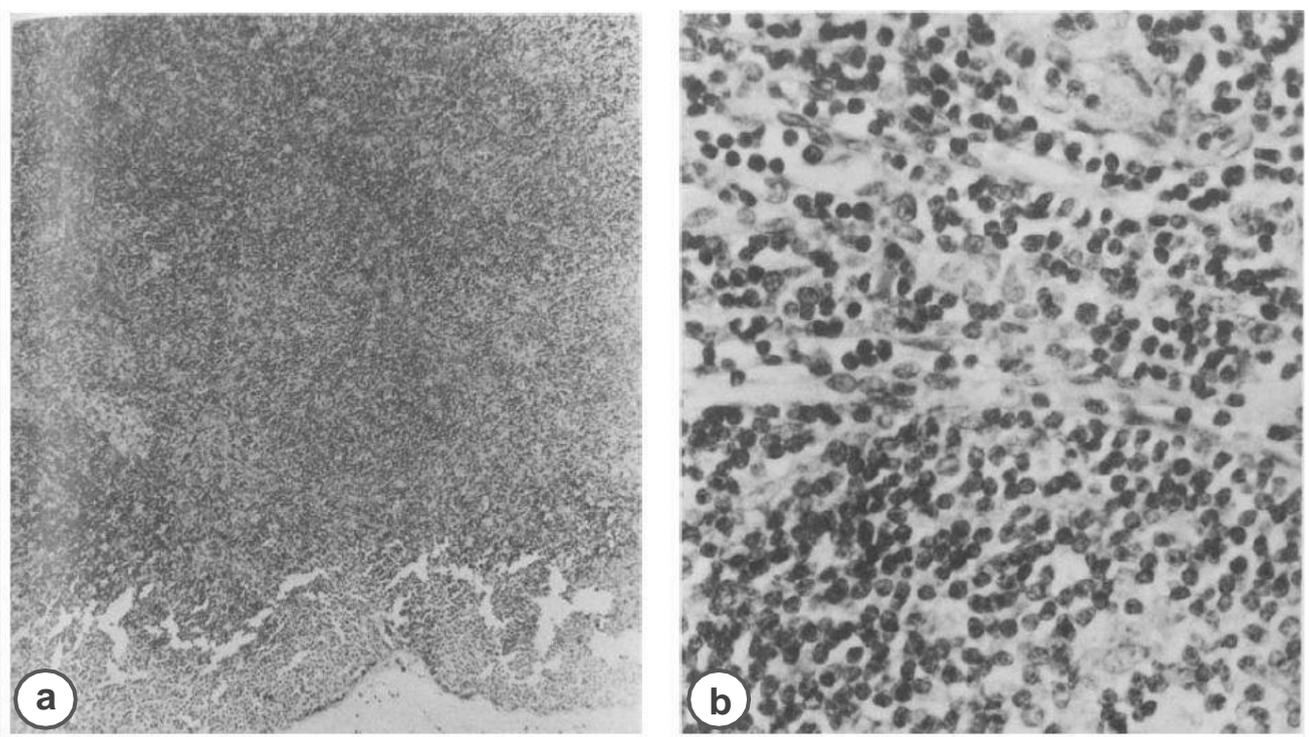
En relación a los monos aulladores específicamente, no se hallaron reportes de neoplasia linfoide de presentación espontánea. Los registros de esta enfermedad en el género *Alouatta*, se limitan a investigaciones de Rangan, 1976 y Rangan y col., 1977. En 1976, Rangan inoculó con *Herpesvirus saimiri* a 4 ejemplares de *Alouatta caraya* lo que derivó en el desarrollo de enfermedad linfoproliferativa maligna en todos los casos, 5-6 semanas luego de la inoculación. Al año siguiente, volvieron a inocular a 5 ejemplares de *Alouatta caraya* con HVS. Uno de ellos, murió a los 17 días de la inoculación y no se realizó aislamiento viral ni evaluación hematológica. La necropsia no tuvo aspectos destacables. Los otros 4 animales presentaron un aumento marcado de los linfonodos inguinales y algunos linfadenopatía periférica. Desde el punto de vista hematológico, todos presentaron un aumento de los glóbulos blancos respecto a la evaluación pre inoculación con una marcada linfocitosis y 2 casos presentaron anemia moderada en la fase terminal de la enfermedad (Figura 5).

TABLE 1.—Clinical and hematologic changes in HVS-inoculated howler monkeys

Expt	Animal	Sex	Lymphadenopathy days PI	Total WBC and percent lymphocytes					Killed (K) or death (D) day PI
				Preinoculation		Day PI	Highest recorded		
				WBC	Lymphocytes		WBC	Lymphocytes	
I	3904 <sup>a</sup>	F	—	13,300	58	ND <sup>b</sup>	ND <sup>b</sup>	ND <sup>b</sup>	17(D)
	4087 <sup>c</sup>	M	+	14,000	64	37	55,200	98	38(K)
II	4625	M	23	16,800	68	30	131,600	93	41(K)
	4624	M	23	11,600	64	41	156,600	98	52(K)
III	4623 <sup>d</sup>	F	29	17,300	69	29	86,300	92	36(K)

Figura 5. Tabla de valores hematológicos de monos aulladores inoculados con HVS, extraída de Rangan y col., 1977.

Se eutanasiaron entre los 36 y 52 días post inoculación debido al mal estado de salud. La necropsia reveló un aumento al doble del tamaño normal en los linfonodos mesentéricos. Algunos presentaron linfadenopatía generalizada y la esplenomegalia fue un hallazgo común. La histopatología reveló una acumulación difusa de grandes linfocitos en los nódulos afectados (Figura 6).



*Figura 6. (a) Nódulo linfático pancreático; muchos linfocitos se apiñan en los senos subcapsulares y se diseminan de manera difusa por la corteza. (b) Nódulo linfático pancreático; características morfológicas de los tipos de células neoplásicas en el nodo. Extraído de Rangan y col., 1977.*

También se halló infiltración linfocítica en el hígado, riñón y pulmones de todos los animales. El análisis histopatológico del bazo no reveló alteraciones significativas. La médula ósea en algunos casos presenta elementos hematopoyéticos en proliferación activa con variados estadios de maduración y diferenciación celular.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.I. Objetivo general**

Describir la presentación clínica, análisis paraclínicos y características histopatológicas de un caso de Linfoma multifocal a difuso de linfocitos B en un ejemplar de *Alouatta caraya* mantenido en cautiverio en el Parque Lecocq, dependencia del Sistema Departamental Zoológico de Montevideo, Uruguay.

#### **3.II. Objetivos específicos**

Comparar los hallazgos del caso clínico presentado con reportes de linfoma en primates no humanos encontrados en la bibliografía internacional.

## 4. MATERIALES Y MÉTODOS

### 4.1. Caso clínico

#### Antecedentes

Un ejemplar de *Alouatta caraya*, hembra entera, ingresó al zoológico Parque Lecocq de Montevideo, Uruguay, en enero de 2016 por decomiso de la brigada de narcóticos del Ministerio del Interior, a un particular. Su estado general era malo, presentaba pelo hirsuto, estado de carnes regular y dermatitis de contacto en cuello por uso de collar. No se obtuvieron registros acerca de la edad del animal, pero a juzgar por la evaluación veterinaria aparentaba ser un animal añoso. Se identificó con el nombre de "Mimbíl". Se realizaron desparasitaciones con Albendazol 25mg/kg (Helmiben® Suspensión) y luego de culminada la cuarentena se trasladó a un recinto con ejemplar macho de *Alouatta caraya* que ya residía en el zoológico.

Se mantuvo en el zoológico desde entonces, junto al ejemplar macho de su misma especie, sin tener contacto directo con otros primates a parte de éste, ni con el público, únicamente con cuidadores y personal veterinario. El recinto, ubicado en el exterior, era de 4.0x4.0x2.30 metros (lado x lado x altura), techado, con piso de concreto, malla de alambre en el perímetro que permitía el pasaje de luz solar y estaba acondicionado con ramas de árboles para mayor enriquecimiento ambiental. Contaban con un refugio de madera compensada con doble pared en donde se disponía de un calefactor interior, quedando éste y su conexión eléctrica separada de los animales.

La dieta administrada a los dos ejemplares era en base a hojas de lechuga, apio, rúcula, perejil, brócoli y espinaca. Se complementaba con verduras (repollo, zapallo, zapallito, boniato, remolacha) y frutas según disponibilidad estacional (manzana, durazno, uvas, ocasionalmente banana). La comida se servía una vez al día, por la mañana. Contaban con agua *ad libitum*.

Con respecto a la anamnesis sanitaria, se realizaban desparasitaciones periódicas cada 6 meses a ambos carayá con albendazol 25mg/kg (Helmiben® Suspensión, Celsius).

La historia clínica registrada del animal desde su ingreso en 2016 hasta el inicio del cuadro en 2019, no presentó aspectos remarcables, más allá de episodios aislados de diarrea o materia pastosa que remitían espontáneamente o respondían a tratamientos breves con antidiarreico oral con ftalilsulfatiazol y dihidroestreptomicina (Neo entero sur®, Laboratorio Sur).

#### Presentación del caso

El 1° de julio de 2019 se observó el animal deprimido, se rehusaba a interactuar y rechazaba alimento. Se observó deposiciones diarreicas en recinto. Al día siguiente, al no constatar cambios en la situación se decidió capturar para trasladar a una jaula de internación y llevar a habitación interior calefaccionada. Se utilizó una jaula de internación de 0.95x0.58x0.80 metros (largo x ancho x altura). La captura se realizó de forma manual, dado que era un animal dócil que permitía realizar este tipo

de maniobras simples.

El cuadro evolucionó presentándose con disminución del apetito y apetito selectivo, adelgazamiento progresivo, apatía y episodios de diarrea intermitente.

Si bien el animal era dócil, no fue posible realizar un examen clínico adecuado sin sedación, por lo que en una primera instancia se realizó tratamiento sintomático. La medicación utilizada por vía oral se administraba mezclada con alimentos que Mimbí no rechazaba (jalea, banana). Para la administración de medicación intramuscular, una persona inmovilizaba al animal con calderín dentro de la jaula de internación, y una segunda persona procedía a inyectar la droga.

Se administró butilbromuro de hioscina 0,2mg/kg i/m y dipirona 25mg/kg i/m como antiespasmódico (Buscapina® compositum, Boehringer Ingelheim) y ranitidina 7,5 mg/kg v/o (Taural® 150mg, Laboratorio Roemmers) como protector de la mucosa gástrica. También se realizó antibioticoterapia con trimetoprim sulfametoxazol v/o (Trimox-f® comprimidos, Laboratorio Urufarma) por un período de 7 días, considerando un posible origen bacteriano como causal de la diarrea. Por otro lado, se realizó un estudio coproparasitario por flotación simple con solución concentrada de cloruro de sodio que arrojó resultado negativo.

Ante la no remisión de los síntomas, el 15 de agosto de 2019 se decidió proceder con la captura mediante inmovilización química para mejor evaluación clínica, extracción de sangre y estudio ultrasonográfico. Se administró ketamina 10 mg/kg i/m (Ketonal® 50, Laboratorios Richmond S.A), lográndose un buen efecto a los 5 minutos, que se mantuvo durante todo el procedimiento y permitió realizar las maniobras sin dificultades. Al examen clínico se detectaron masas palpables a nivel abdominal. Se llevó a cabo el estudio ultrasonográfico de abdomen con ecógrafo Sonosite x3v, sonda microconvexa de 9mHz en el Hospital Veterinario del Parque Lecocq. Durante la ecografía se realizó una PAAF de nódulos mesentéricos que se remitió en portaobjetos para diagnóstico citológico a un laboratorio particular. Además se extrajo sangre que se envió a laboratorio privado en tubo con EDTA para realización de hemograma y en tubo seco para evaluación de enzimas hepáticas y perfil renal (urea y creatinina).

El cuadro clínico continuó con depresión, diarrea líquida intermitente, anorexia, y adelgazamiento progresivo. No se realizó ningún otro tratamiento más allá del sintomático especificado anteriormente, que varió según la evaluación diaria del animal.

En la mañana del 8 de setiembre de 2019 se constató el deceso natural de Mimbí. Ese mismo día se procedió a realizar la necropsia en el Hospital Veterinario del Parque Lecocq, donde se tomaron muestras de los órganos afectados. Porciones de yeyuno, colon, ciego y nódulos mesentéricos se fijaron en solución con formaldehído al 10% y se remitieron a un laboratorio privado para estudio histopatológico. Las muestras de tejido fueron procesadas rutinariamente, incluidas en parafina, seccionadas a 4 µm y teñidas con hematoxilina y eosina para su observación en el microscopio óptico. Se realizó también coloración inmunohistoquímica con los anticuerpos CD20 (marcador de linfocitos B) y CD3 (marcador de linfocitos T) para la tipificación del linfoma.

## 5. RESULTADOS

### 5.1. Métodos paraclínicos de diagnóstico

#### Ultrasonografía

El estudio realizado por el Dr. Nicolás Girreta, informó: Hígado homogéneo con bordes lisos y patrón vascular normal, vesícula biliar con paredes finas y contenido anecoico normal, vías biliares sin particularidades. Estómago distendido con paredes finas, contenido de patrón gaseoso. Intestino con zonas con paredes conservadas, estratificación mural normal, tránsito normal. En abdomen medio caudal se observa intestino con paredes muy engrosadas con borde irregular hacia lumen, hipoeoica, neovascularizada sugerente de proceso infiltrativo/neoplásico (¿colon?). Rodeando dicha masa se observan múltiples adenomegalias mesentericas de entre 2mm y 12mm hipoeoicas con bordes lisos. Fuerte reacción peritoneal difusa, neovascularizada (sugerente de proceso infiltrativo). Riñones con forma y tamaño normal, límite corticomedular difuso. Vejiga pequeña con contenido anecoico normal.

#### Valores de Hemograma (Laboratorio S&B)

*Tabla 4. Resultados de Hemograma de “Mimbí” 15 de agosto de 2019*

Resultados	Valores de referencia*	
HTO (%)	24	33-41
HGB (g/dl)	6.28	7.36-15
Eritrocitos ( $10^6/\mu\text{l}$ )	2.81	3.44-6.16
Leucocitos ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ )	12.0	3.71-16.65
Neutrófilos ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ )	8.12	1.06-12.9
Eosinófilos ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ )	0.68	0.06-0.54
Linfocitos ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ )	2.81	1.4-4.26
Monocitos ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ )	0.38	0.1-1.63
Basófilos ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ )	0	0-0.15

(\*) Valores de referencia tomados de Flaiban y col., 2009.  
HTO: Hematocrito. HGB: Hemoglobina.

#### Valores de Bioquímica sanguínea (Laboratorio S&B)

*Tabla 5. Resultados de bioquímica sanguínea de “Mimbí” 15 de agosto de 2019.*

Resultados	Valores de referencia*	
<b>Enzimas Hepáticas</b>		
AST (ui/L)	56.3	78.6-143**-
ALT (ui/L)	55.2	5-15
FAS (ui/L)	261.0	11-1177
<b>Perfil Renal</b>		
Urea (mg/dl)	70.2	11-51
Creatinina (mg/dl)	1.1	0.6-1.7

(\*) Valores de referencia tomados de de Melo y col., 2019.

(\*\*) Valor de referencia tomado de Valle y col., 2002

AST: Aspartato aminotransferasa. ALT: alanina aminotransferasa. FAS: fosfatasa alcalina.

### **Diagnóstico citológico de la PAAF de nódulos mesentéricos**

21 de agosto de 2019. Estudio realizado en el laboratorio privado de la Dra. Cecilia Menéndez, el informe detalló: "Sobre un fondo escasamente hemorrágico se observó una abundante población homogénea de células linfoides inmaduras (linfoblastos). Células redondas de tamaño mediano a grandes, núcleo redondeado basofílico intenso y moderada cantidad de citoplasma basofílico medio definido. Se observó moderada anisocitosis y anisocariosis. Presencia de macronúcleos y multinúcleos. Regular cantidad de linfocitos maduros. Escasos cuerpos linfoglandulares. Escasos neutrófilos y células plasmáticas. Estudio compatible con linfoma"

### **5.II. Hallazgos de necropsia**

Fecha y hora de muerte: 08/09/2019, en la madrugada.  
Fecha de realizada la necropsia: 08/09/2019. 11:00 a.m.

Estado nutricional: Caquexia

#### **Exterior (Piel y sus anexos y tejido subcutáneo)**

Piel seca, pelo opaco e hirsuto. Tejido subcutáneo presencia de escaso tejido adiposo. Ojos y oídos sin particularidades.



*Figura 7. Estado general del animal antes de iniciar la necropsia*



*Figura 8. Se observa pelo hirsuto, piel seca y estado de caquexia*

**Interior:** Grasa corporal muy escasa. Sin líquido contenido en la cavidad ni adherencias anormales



*Figura 9. Órganos al incidir la cavidad abdominal.*

**SISTEMA RESPIRATORIO (Narinas, Senos, Laringe, Pleura, Bronquios, Pulmones):** Narinas s/p, sin corrimiento. Mucosa laríngea de aspecto normal. Pulmones, bronquios y pleura de coloración y aspecto normal (Figura 10A).

**SISTEMA CIRCULATORIO (Corazón, Pericardio, Arterias, Venas, Linfáticos):** Presencia de escasa cantidad de tejido adiposo en pericardio. Miocardio color rojo pálido, no se evidencian lesiones macroscópicas. Arterias y venas principales sin alteraciones (Figura 10B)

**SISTEMA DIGESTIVO (Boca, Faringe, Esófago, Estómago, Intestino, Recto, Hígado, Páncreas, Peritoneo)**  
Boca, dientes desgastados con presencia de sarro. Esófago s/p. Estómago distendido por presencia de gas y escaso contenido. Colon y ciego distendidos también con gas. Mucosa intestinal engrosada de coloración grisácea y con lesiones petequiales. Contenido líquido a lo largo de todo el tracto intestinal (Figura 11). Hígado sin alteraciones macroscópicas, parénquima de consistencia normal (Figura 13).

**SISTEMA HEMATOPOYETICO (Nódulos linfáticos, Bazo, Médula ósea):** Nódulos linfáticos mesentéricos aumentados de tamaño, congestivos y de aspecto irregular. Bazo contraído, sin alteraciones visibles macroscópicamente. Reacción ganglionar múltiple en mesenterio (Figura 12).

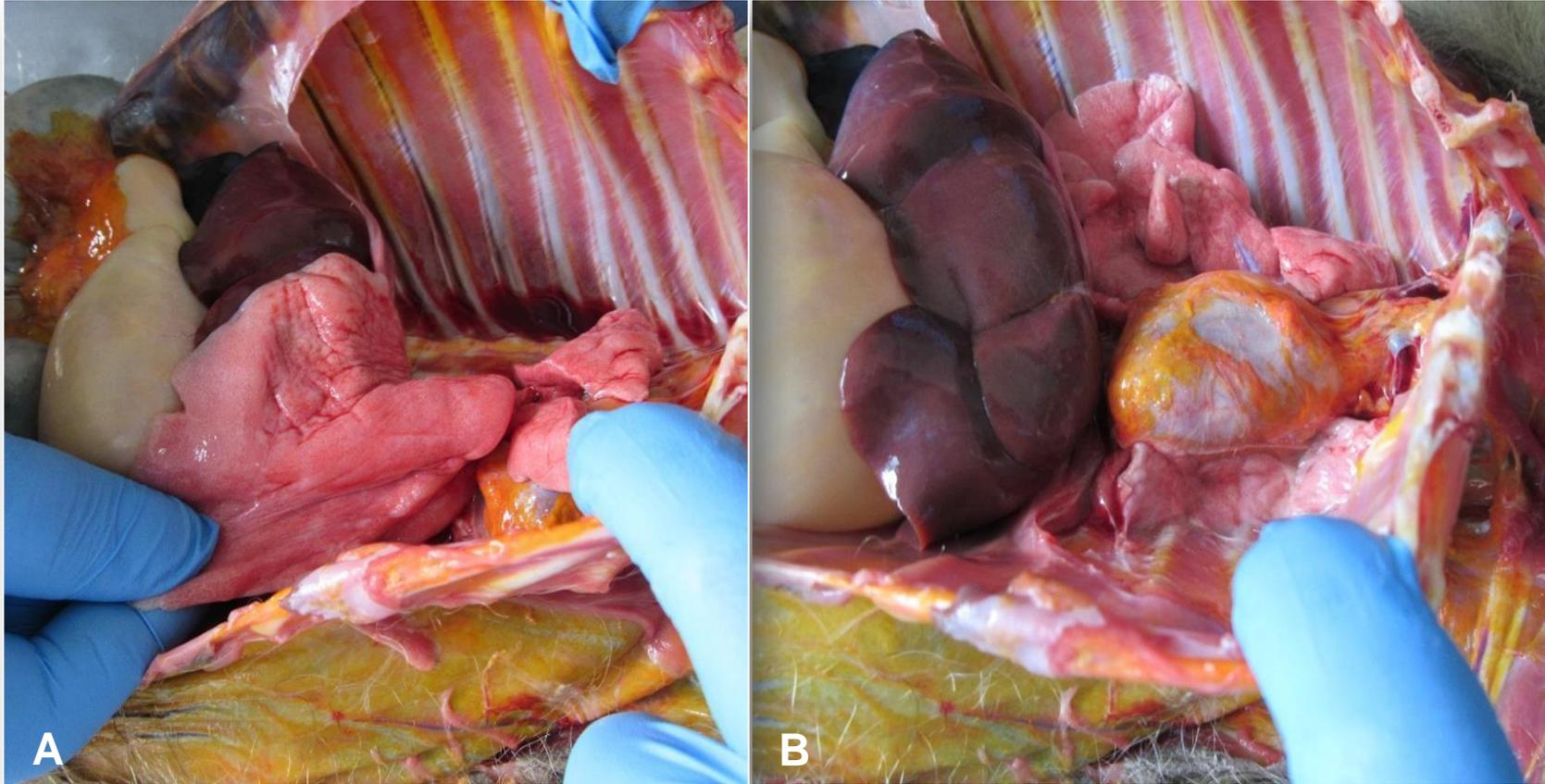
**SISTEMA URINARIO (Riñones, Uréteres, Vejiga, Uretra):** Riñones de color y aspecto normal. Definición córtico-medular buena. Consistencia del parénquima sin alteraciones (Figura 14). Vejiga sin alteraciones que mencionar.

**SISTEMA GENITAL (Vulva, Vagina, Útero, Ovarios, G. mamaria):** Útero pequeño sin alteraciones visibles. Ovarios sin particularidades. Glándulas mamarias normales.

**SISTEMA ENDOCRINO (Hipófisis, Adrenales, Tiroides, Paratiroides):** Glándulas adrenales aumentadas de tamaño.

**SISTEMA LOCOMOTOR (Músculo, Huesos, Articulaciones):** Pérdida de masa muscular debido al estado de caquexia.

**SISTEMA NERVIOSO (Cerebro, Cerebelo, Bulbo, Protuberancia, M Espinal):** No se examina.



*Figura 10. (A) Pulmones en cavidad torácica de coloración y aspecto normal. (B) Corazón sin particularidades. Escasa cantidad de tejido adiposo en pericardio.*

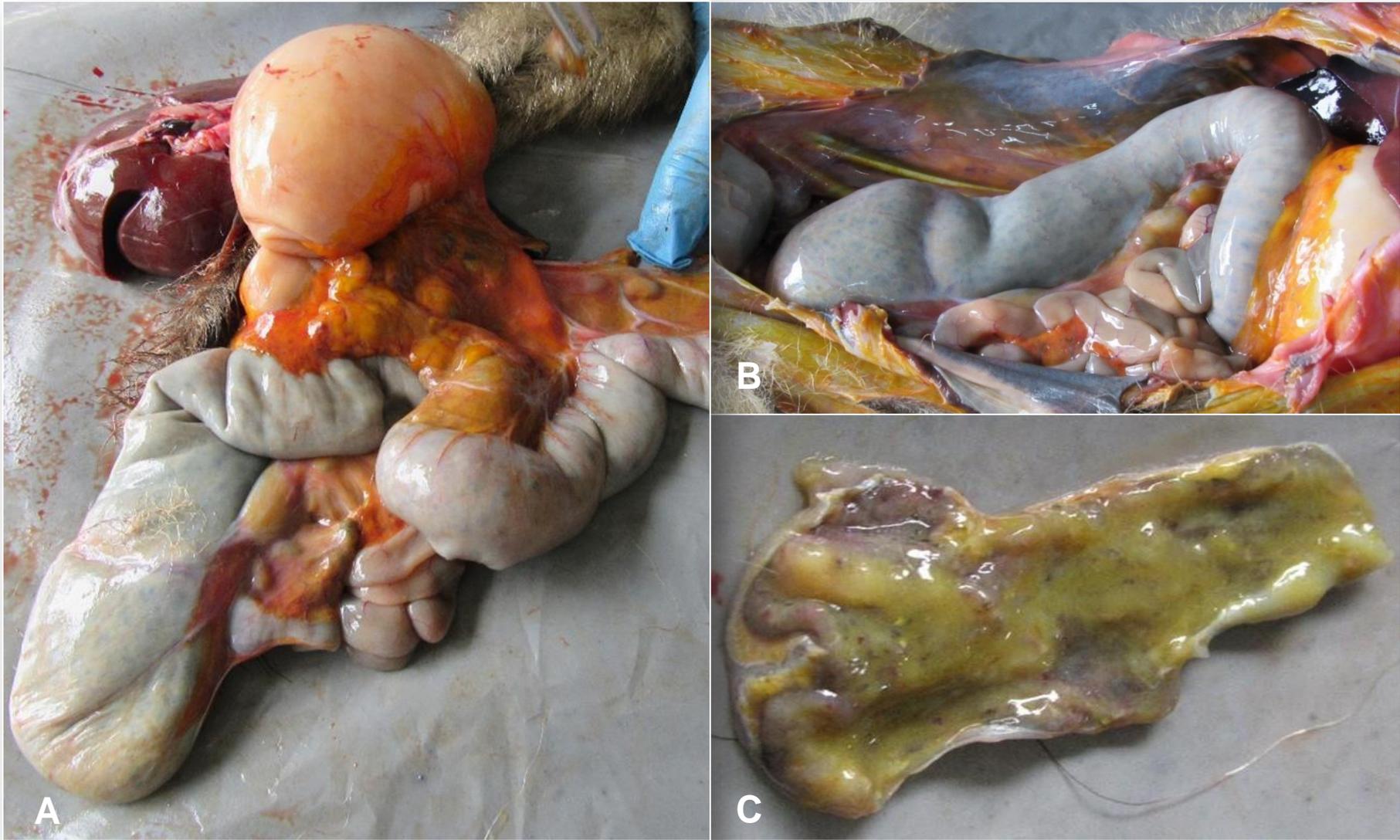


Figura 11. (A) Estómago, ciego y colon distendidos, con gas. Linfonodos mesentéricos reactivos. (B) Ciego y colon distendidos, se observa coloración grísácea anormal del intestino. (C). Sección de mucosa intestinal que se presente engrosada, irregular y con petequias



*Figura 12. Nódulos mesentéricos reactivos, aumentados de tamaño y congestivos, coloración oscura anormal.*



*Figura 13. Hígado sin alteraciones macroscópicas evidentes.*



*Figura 14. Ambos riñones con relación córtico-medular conservada, sin lesiones macroscópicas.*

### 5. III. Resultados de histopatología

Se remitieron muestras para estudio histopatológico en solución con formaldehído al 10% al laboratorio privado de la Dra. Déborah César. Se enviaron muestras de pared de ciego, colon e intestino delgado y de nódulos mesentéricos adyacentes.

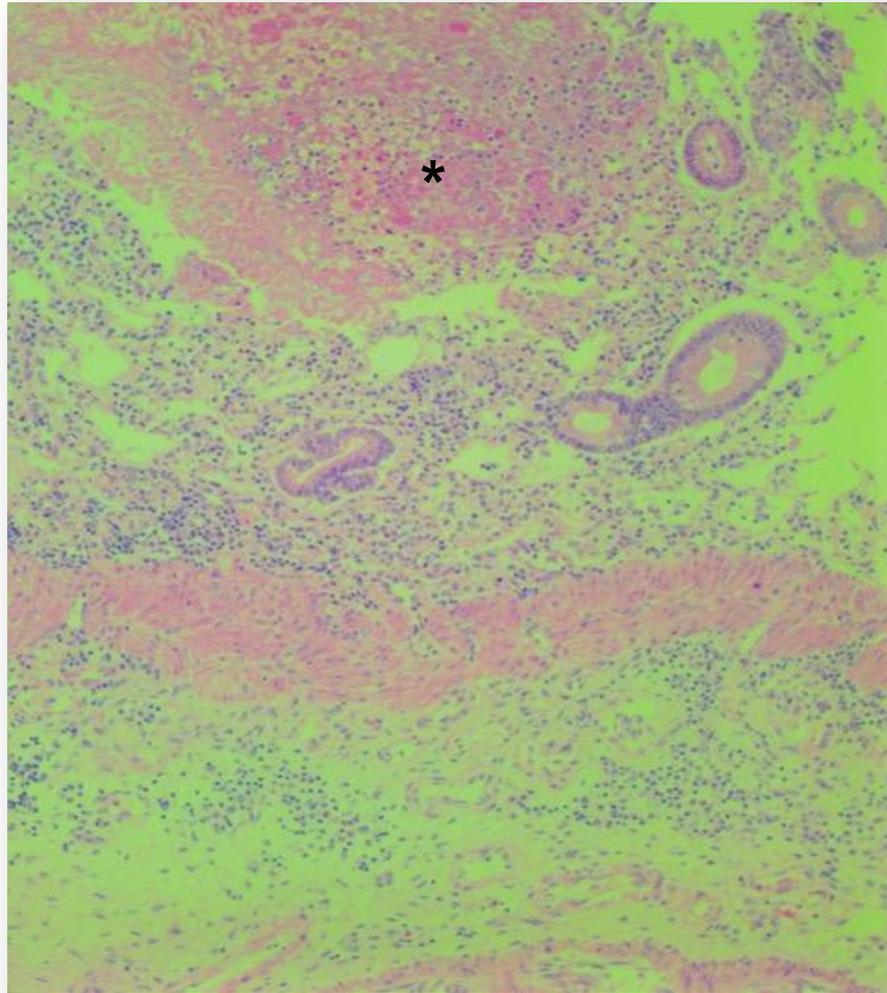
#### **Descripción histológica**

A la histopatología de las tres muestras de intestino, así como de nódulo linfático se observa el mismo patrón lesional.

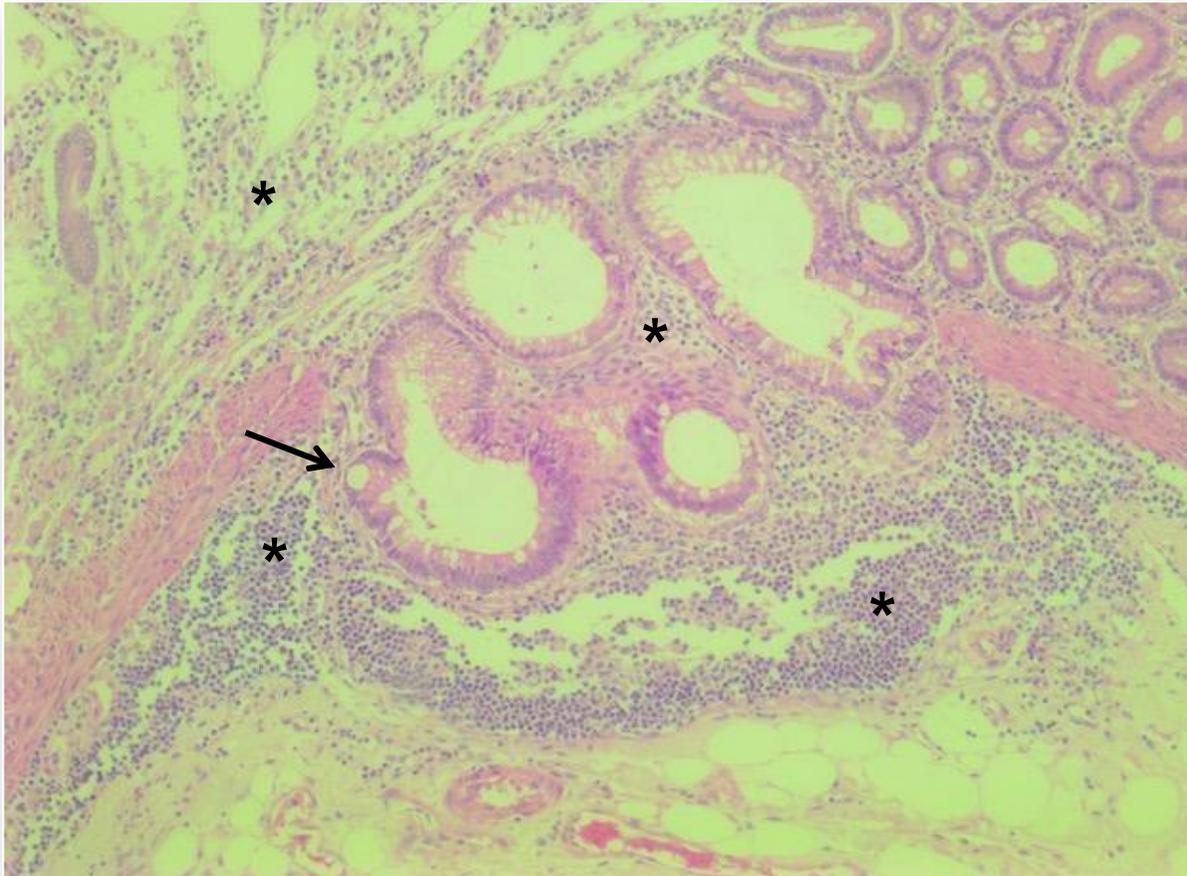
A nivel intestinal se observa una moderada autólisis con una necrosis de las vellosidades, dilatación de algunas glándulas y un moderado aumento de las células caliciformes. Se distingue un leve a moderado infiltrado de células linfocitarias con moderado pleomorfismo. (Figura 15 y Figura 16). Esas mismas células se observan en acúmulos a nivel de submucosa. Las células linfocitarias son redondeadas de tamaño medio con leve a moderado citoplasma levemente eosinófilo y núcleo redondo con cromatina condensada en grumos. Con tinción inmunohistoquímica con CD20 se observa infiltración de células B (Figura 17 y Figura 18).

A nivel de nódulo linfático se observa una leve pérdida de la arquitectura del órgano con una infiltración multifocal de las células linfocitarias tumorales. Las células son similares a las observadas a nivel intestinal (Figura 19). Dicha infiltración también se verifica por fuera de la cápsula del órgano. Con la tinción inmunohistoquímica de anticuerpo CD20 se observa la infiltración de células B y que la coloración es bien de membrana citoplasmática (Figura 20 y Figura 21).

**Diagnóstico histopatológico:** Linfoma multifocal de células B. Las lesiones observadas corresponden a una neoplasia linfocitaria, en este caso ubicada a nivel de órganos y nódulos del sistema digestivo. El tipo celular es de tamaño medio, así como el pleomorfismo observado se dispone a nivel ganglionar de forma multifocal a difuso. Se realizó la coloración inmunohistoquímica con los anticuerpos CD20 (marcador de linfocitos B) y CD3 (marcador para linfocitos T) dando positivo al marcador de células B.



*Figura 15. Mucosa intestinal con necrosis de las vellosidades (flecha) e infiltrado de células linfoides.*



*Figura 16. Infiltrado de células linfocíticas con moderado pleomorfismo en la mucosa intestinal (\*). Glándulas intestinales dilatadas con aumento de células caliciformes (flecha). Tinción hematoxilina-eosina (20x)*

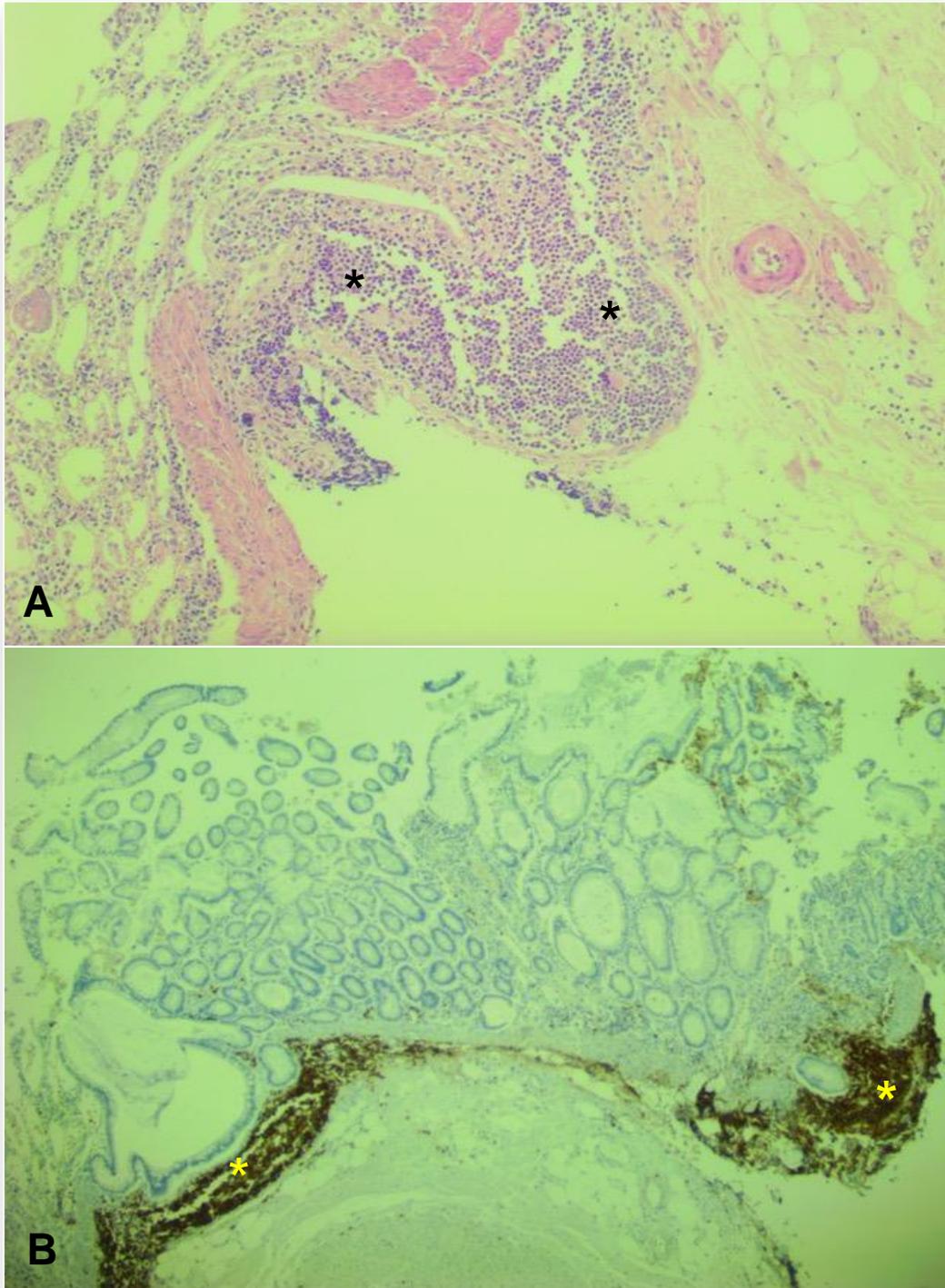
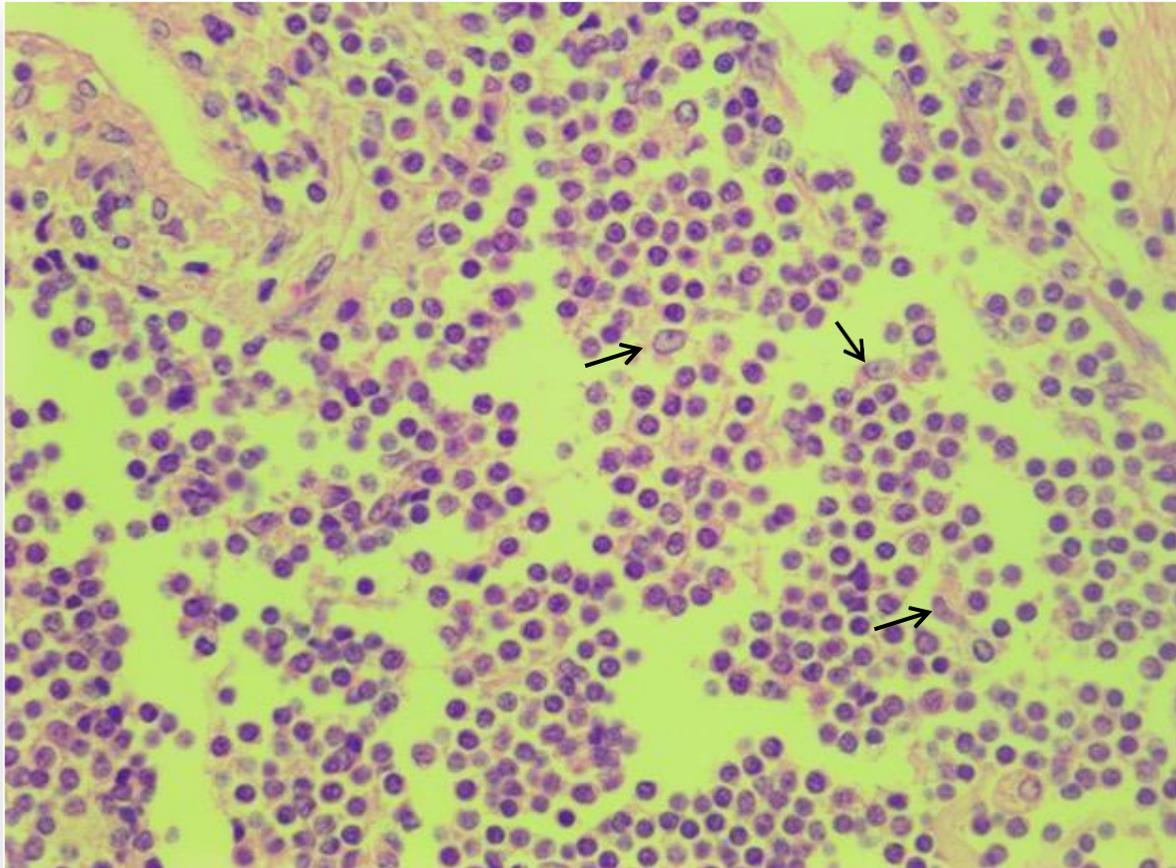


Figura 17. Mucosa y submucosa intestinal con infiltración linfocitaria. (A) Tinción hematoxilina-eosina, 20x. (B). Inmunohistoquímica con marcador CD20, tinción positiva para células B (\*).



*Figura 18. Mucosa intestinal (40x) se observan células linfocíticas redondeadas, núcleo grande, leve a moderado citoplasma y moderado pleomorfismo.*

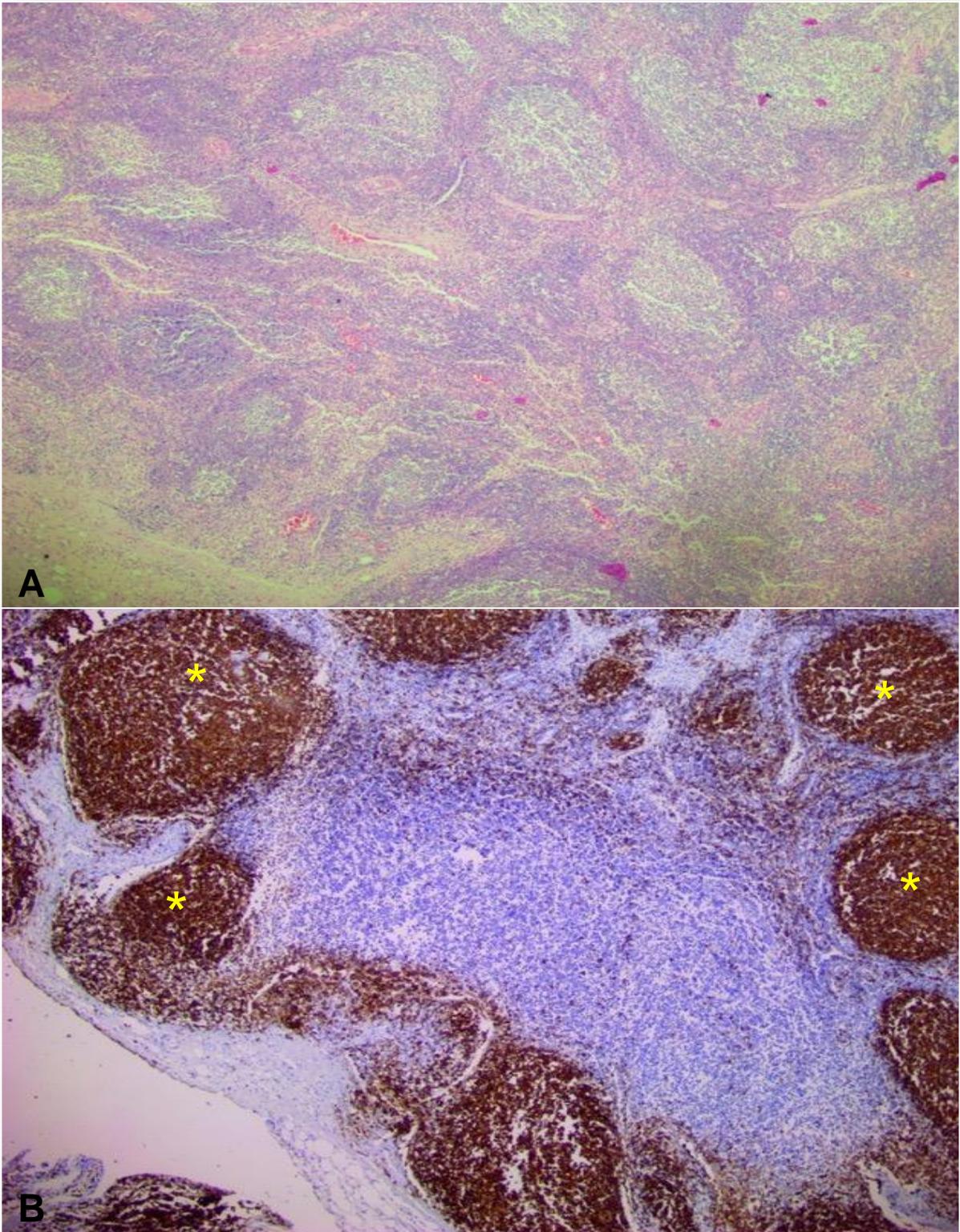


Figura 19. (A) Corteza ganglionar con alteración de la estructura normal y depleción celular en folículos linfoides (\*). Tinción H-E (20x). (B) Folículos linfoides de la corteza ganglionar con tinción inmunohistoquímica positiva para marcador CD20 (\*) (20x).

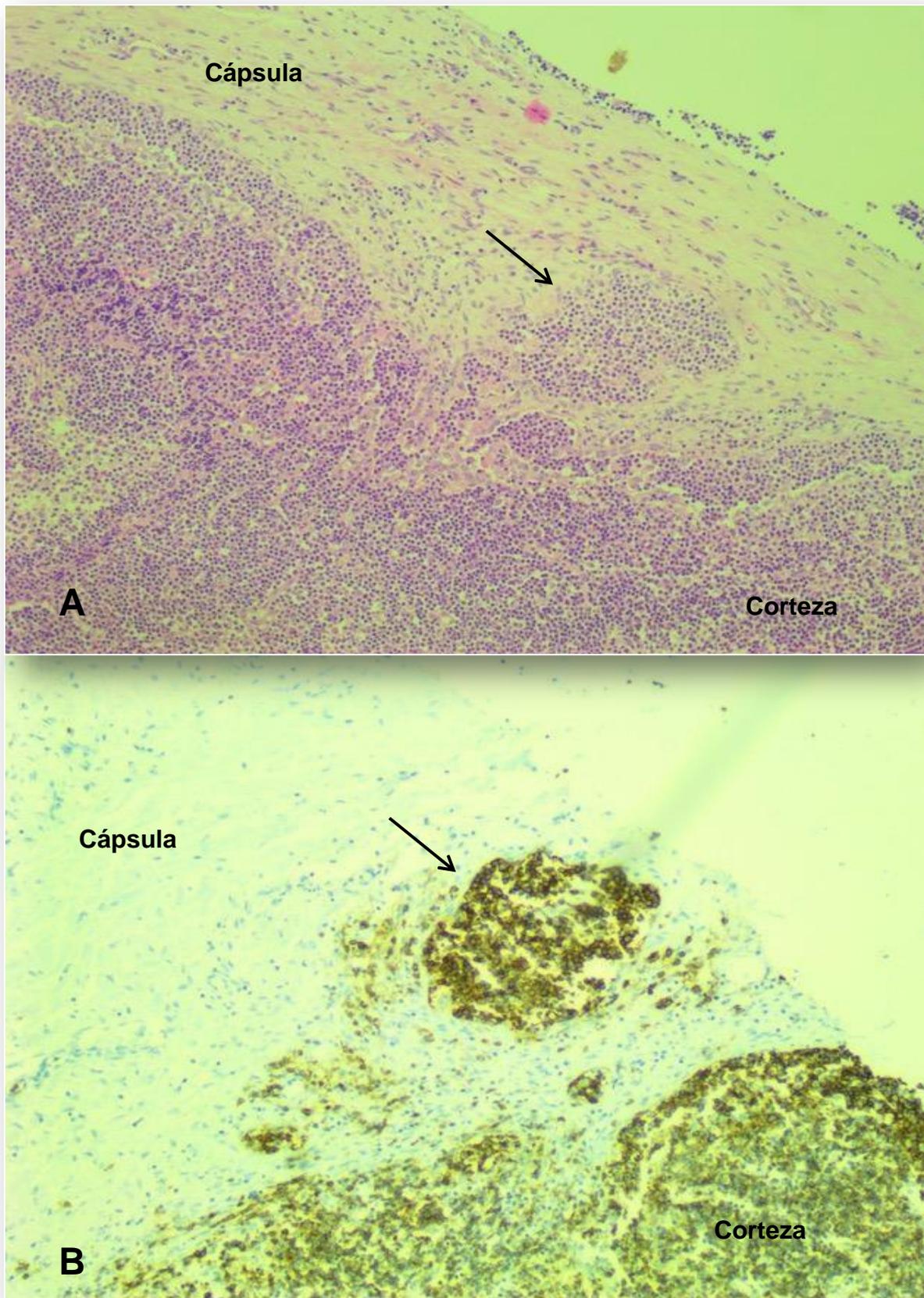
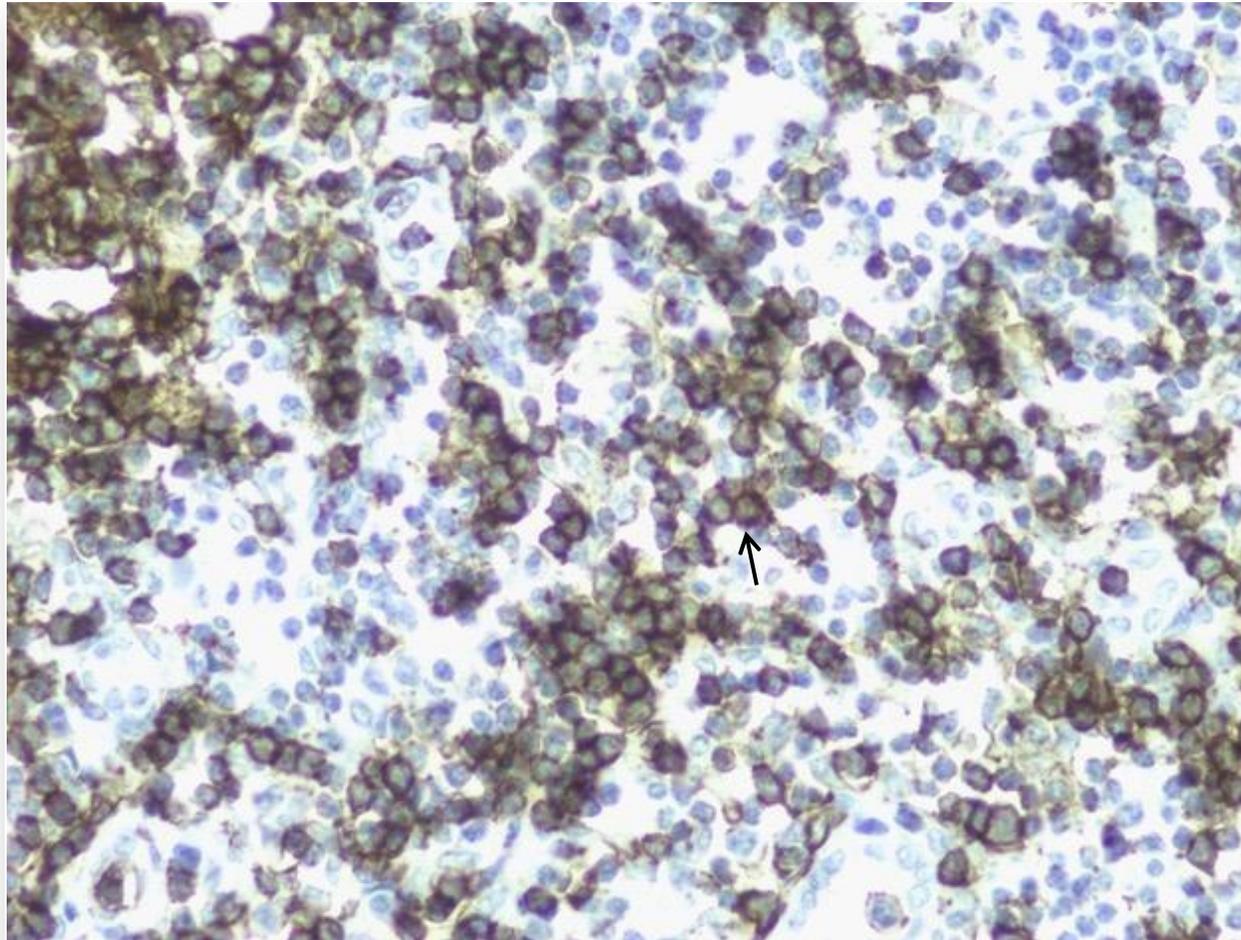


Figura 20. Conjunto de células linfoides infiltrando la cápsula ganglionar (flechas). (A) Tinción H-E (20x). (B) Inmunohistoquímica con marcador CD20, reacción positiva



*Figura 21. Células linfoides con coloración de membrana citoplasmática luego de la tinción inmunohistoquímica con marcador CD20.*

## 6. DISCUSIÓN

Como objetivo general de este trabajo se planteó reportar la presentación clínica, los análisis paraclínicos y características histopatológicas de un caso de Linfoma multifocal a difuso de Linfocitos B en un ejemplar de *Alouatta caraya*. Respecto al mismo, se puede decir que el procedimiento para alcanzar el diagnóstico fue el recomendado por la bibliografía, constando de un examen clínico, análisis paraclínicos, imagenología, citología y por último la confirmación por histopatología e inmunohistoquímica para la tipificación del linfoma.

La sintomatología clínica coincide con los reportes de linfomas en otras especies como caninos y felinos, y con publicaciones (Rangan y col., 1977; Ramer y col., 2000; Ikpatt y col., 2014) realizadas de esta enfermedad en primates. Los trastornos hematológicos asociados a linfoma en los animales de compañía incluyen anemia no regenerativa, en este caso, en el hemograma se pudo constatar valores de hematocrito, eritrocitos y hemoglobina muy por debajo del límite inferior, signos indicativos de anemia. Debido a que el laboratorio privado al cual se remitieron las muestras, no realizó medición del Volumen Corpuscular Medio, no se pudo saber si se trataba de un proceso regenerativo o no. El perfil renal mostró un aumento de la urea, que podría atribuirse al estado hídrico deficitario del paciente.

Es importante recalcar, que no se hallaron publicaciones de esta patología en ejemplares de *Alouatta caraya*, más allá de la investigación de Rangan y col., (1977) por lo que las similitudes y las diferencias del caso se establecen en relación a reportes individuales (Rangan y col., 1977; Ramer y col., 2000; Ikpatt y col., 2014) de casos de linfoma en otros primates y tomando como referencia la información disponible sobre neoplasias linfoides en medicina veterinaria, que está principalmente enfocada a perros y gatos.

Otro de los objetivos planteados en este trabajo fue comparar la presentación clínica del caso reportado con publicaciones sobre linfomas en primates, encontradas en la revisión bibliográfica. De la revisión surgió que dentro de las neoplasias reportadas para los primates no humanos, las neoplasias linfoides son las de presentación más frecuente. Tanto en las personas, como en caninos y felinos, las enfermedades linfoproliferativas también resultan tener una alta prevalencia. En relación a los primates específicamente, se hallaron 3 reportes de casos con una presentación clínica muy similar al caso de Mimbí.

Si los ordenamos por orden cronológico, el primero corresponde a la investigación de Rangan y col., (1977) donde inocularon experimentalmente a 5 ejemplares de *A. caraya* con *Herpesvirus saimiri*. Los animales desarrollaron aumento de nódulos inguinales y a la necropsia se constató un importante aumento de los nódulos mesentéricos. Sin embargo, no se menciona afectación del tracto gastrointestinal y se detectó una marcada esplenomegalia, lesión que no se identificó en la necropsia del Mimbí, por el contrario, el bazo se mostró contraído y sin alteraciones evidentes. Con respecto a los cambios hematológicos, en estos animales se pudo observar una marcada linfocitosis luego de la infección con el *H. saimiri* y anemia en 2 casos. En el presente caso, si bien se constató anemia, el hemograma no mostró alteraciones en la serie blanca.

En segundo lugar, nos encontramos con el caso de las marmosetas (*Callithrix jacchus*) del Centro Regional de Investigación de Primates de Wisconsin que presentaron de forma espontánea (no inducida), un cuadro idéntico de pérdida de peso, inapetencia y diarrea. A la necropsia de los animales se pudo comprobar que los nódulos mesentéricos estaban aumentados de tamaño y posteriormente por histopatología se detectó infiltración de linfocitos neoplásicos en los linfonodos, colon, duodeno, yeyuno e íleon. Las células se identificaron por inmunohistoquímica como linfocitos B por reaccionar positivamente al marcador CD20. Algunos, presentaron linfocitos tumorales en hígado, riñón y pulmones (Ramer y col., 2000). En nuestro reporte, esto no se pudo comprobar, dado que no se remitieron muestras de órganos que no presentaran alteraciones visibles macroscópicamente. Por otra parte, los investigadores del centro de Wisconsin, identificaron células en el bazo de algunos animales que reaccionaron positivamente al marcador para EBV, vinculando el caso a una etiología viral, e identificando más adelante por PCR un nuevo gammaherpesvirus (Ramer y col., 2000).

Por último, otro de los casos que presenta grandes similitudes con la paciente del Parque Lecocq, es el reportado por Ikpatt y col., (2014) de un linfoma difuso de Linfocitos B en un orangután en un zoológico de Miami, Estados Unidos de Norte América. El animal presentó pérdida de peso, depresión, y dolor abdominal. Fue intervenido quirúrgicamente por detectarse obstrucción del yeyuno, donde acabaron removiendo el tramo intestinal afectado. No se constató afección de los linfonodos mesentéricos, por lo cual no se realizó biopsia de los mismos. Por histopatología confirmaron que el intestino presentaba una infiltración difusa de linfocitos, que pudieron identificar como linfocitos B por inmunohistoquímica, e identificaron un virus relacionado al EBV por hibridación in situ. Recibió un tratamiento basado en un protocolo R-CHOP al cual respondió positivamente.

A partir de la información recabada y teniendo en cuenta que los linfomas en primates se han relacionado frecuentemente a infecciones virales (Miller, 2012), cabe preguntarse si este caso podría haberse vinculado a una etiología viral. En su momento no se relacionó a esta causal y no se realizaron pruebas diagnósticas para comprobarlo. Teniendo en cuenta el desconocimiento acerca de los orígenes de Mimbí y su procedencia del tráfico de fauna silvestre (que supone pésimas condiciones sanitarias), no puede descartarse la posibilidad de contacto con monos ardilla (*Saimiri* sp.) primates que también son víctimas del comercio ilegal y hospedadores naturales del *H. saimiri*. Surge la interrogante, si a las muestras analizadas histológicamente, podría haberse aplicado un análisis inmunohistoquímico con un marcador para EBV, tal como se realizó en el caso de Ramer y col., (2000) para comprobar la vinculación del brote con un gammaherpesvirus. Publicaciones de Mariño y col., (2004) y Mariño y col., (2005) comprueban mediante inmunohistoquímica la asociación del virus de Epstein-Barr a casos de Linfomas No Hodgkinianos en la población uruguaya. En comunicación personal con la Dra. Ana Mariño (docente de la cátedra de Anatomía Patológica de la Facultad de Medicina, UdelaR), confirmó que el estudio por IHQ para EBV se realiza en nuestro país de manera rutinaria contando con los marcadores específicos, por lo que podría haberse testeado para este caso, abriendo la posibilidad de realizarlo en trabajos posteriores.

Finalmente, es pertinente plantearse si Mimbí podría haber tenido opción de tratamiento específico para el linfoma. En primer lugar, se debe considerar que el hecho

de no ser un animal doméstico, pudo haber retrasado un diagnóstico más prematuro de la patología, dado que primariamente se hizo un tratamiento sintomático para evitar la captura e inmovilización química del paciente, maniobras de estrés y riesgo en los animales silvestres. En este sentido, se debe reconocer que el tiempo transcurrido entre el inicio del cuadro y el diagnóstico llevó a un mayor deterioro en la salud del paciente, que no respondía al tratamiento sintomático.

Con el resultado de la citología, se estableció la compatibilidad del cuadro con un linfoma. No se consideró la opción de tipificar el mismo mediante citometría de flujo a partir de las muestras obtenidas por PAAF, método comúnmente utilizado para evaluar opciones de tratamiento en caninos. Quizás el haber tenido la información de que se trataba de un linfoma de linfocitos B previo a la muerte del animal, hubiese permitido manejar opciones terapéuticas, ya que éstos responden mejor al tratamiento que los linfomas de células T.

De todas maneras, se debe tener en cuenta que el paciente presentaba afectación de gran parte del tracto gastrointestinal, así como de toda la cadena ganglionar a nivel mesentérico. A su vez, era un animal añoso que tenía signos de enfermedad sistémica, lo cual pone en duda si el animal hubiera tolerado la instauración de un protocolo quimioterapéutico. Por otro lado, habría que analizar la viabilidad de instaurar una quimioterapia en este paciente, considerando que para cada dosificación sería necesaria una sedación, posiblemente un traslado, además de contar con disponibilidad de recursos económicos y humanos. Quizás, la opción terapéutica menos arriesgada en este sentido, hubiera sido el tratamiento con prednisona a dosis altas, como una medida para aliviar la sintomatología en el corto plazo. Desgraciadamente, la enfermedad llevó a un pronto desmejoramiento general de la salud del animal, que derivó en su fallecimiento luego de 9 semanas de la observación de los primeros síntomas. La rápida evolución del cuadro, se asimila a lo reportado en caninos, quienes en promedio presentan una sobrevida de 4-6 semanas si no reciben tratamiento (Vail y Young, 2007).

## 7. CONCLUSIONES

Hasta la mitad del siglo XX se creía que las neoplasias en primates no humanos, no eran enfermedades frecuentes. Esta percepción ha cambiado a lo largo de los años, a medida que aumentó la esperanza de vida de los primates mantenidos en cautiverio y en centros de investigación, y los reportes comenzaron a ser más usuales. Si bien hoy en día se cuenta con más información respecto a esta enfermedad en los monos, la misma aún es limitada, debiendo recurrir a reportes de casos individuales y sin contar con bibliografía específica para cada especie, género o familia de primate, teniendo que extrapolar la información de las publicaciones disponibles. Por este motivo, tanto en esta Tesis, como en otros trabajos consultados, los autores se ven obligados a comparar el caso presentado con estudios de la enfermedad en medicina humana o tomando como referencia a los caninos y felinos, especies donde la oncología veterinaria ha tenido más desarrollo.

En este sentido, en el presente trabajo se pudo establecer que este ejemplar geronte de mono carayá, presentó un linfoma multifocal a difuso de Linfocitos B, con células de tamaño medio que se encontraron infiltrando intestino delgado, ciego, colon y linfonodos mesentéricos. El curso de la enfermedad tuvo una duración total de 9 semanas desde el inicio de la sintomatología, hasta el fallecimiento del animal. El subtipo de Linfoma, mostró similitudes con la presentación más frecuente en humanos y en caninos: el linfoma difuso de células B grandes. Por otro lado, la presentación intestinal de la enfermedad, se relaciona a la forma de mayor prevalencia en felinos, la cual también se manifiesta en los animales gerontes.

Por último mencionar, que se establecieron grandes similitudes con reportes de linfomas espontáneos en otros primates como *Pongo pygmaeus* y *Callithrix jacchus*, además de encontrarse semejanzas con un caso experimental de linfoma en *Alouatta caraya* luego de la inoculación con *Herpesvirus saimiri*. A diferencia de estas tres publicaciones, en este caso no se comprobó una vinculación a una etiología viral, dado que no se realizaron pruebas diagnósticas orientadas a la identificación del agente, pero se plantea la posibilidad de investigarlo en trabajos posteriores.

Para terminar, se remarca la importancia del estudio de las enfermedades de los animales silvestres, considerando fundamental investigar y aportar a la casuística cuando se presentan patologías de este tipo. Finalmente, concluimos que este trabajo representa un nuevo reporte sobre el linfoma para la especie *Alouatta caraya* y el primer diagnóstico de esta patología para el género *Alouatta* en nuestro país.

## 8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ablashi, D. V., Aulakh, G. S., Luetzeler, J., Sundar, K. S., Armstrong, G. R., Faggoni, A. (1983). Fatal lymphoproliferative disease in a common marmoset (*Callithrix jacchus*) following inoculation of Ag876 strain of Epstein-Barr virus and a tumor-promoting agent: preliminary report. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*, 6(2), 151-160.
2. Agostini, I., Holzmann, I., Di Bitetti, M. S. (2008). Infant hybrids in a newly formed mixed-species group of howler monkeys (*Alouatta guariba clamitans* and *Alouatta caraya*) in northeastern Argentina. *Primates*, 49(4), 304-307.
3. Agostini, I., Holzmann, I., Di Bitetti, M. S. (2010). Are howler monkey species ecologically equivalent? Trophic niche overlap in syntopic *Alouatta guariba clamitans* and *Alouatta caraya*. *American Journal of Primatology: Official Journal of the American Society of Primatologists*, 72(2), 173-186.
4. Aguiar, L. M., Ludwig, G., Svoboda, W. K., Teixeira, G. M., Hilst, C. L., Shiozawa, M. M., Passos, F. C. (2007). Use of traps to capture black and gold howlers (*Alouatta caraya*) on the islands of the Upper Paraná River, Southern Brazil. *American Journal of Primatology: Official Journal of the American Society of Primatologists*, 69(2), 241-247.
5. Almeida, M. A. B. D., Santos, E. D., Cardoso, J. D. C., Fonseca, D. F. D., Noll, C. A., Silveira, V. R., Brasil, R. A. (2012). Yellow fever outbreak affecting *Alouatta* populations in southern Brazil (Rio Grande do Sul State), 2008-2009. *American Journal of Primatology*, 74(1), 68-76.
6. Anzil, A., Bowden, D. M., Ploog, D. (1977). Malignant Lymphoma in a Squirrel Monkey (*Saimiri sciareus*). *Journal of Medical Primatology*, 6, 251-256.
7. Apetrei, C., Robertson, D. L., Marx, P. A. (2004). The history of SIVS and AIDS: epidemiology, phylogeny and biology of isolates from naturally SIV infected non-human primates (NHP) in Africa. *Front Biosci*, 9(2004), 225-254.
8. Arroyo-Rodríguez, V., Mandujano, S. (2006). Forest fragmentation modifies habitat quality for *Alouatta palliata*. *International Journal of Primatology*, 27(4), 1079-1096.
9. Arroyo-Rodríguez, V., Dias, P. A. D. (2010). Effects of habitat fragmentation and disturbance on howler monkeys: a review. *American Journal of Primatology: Official Journal of the American Society of Primatologists*, 72(1), 1-16.
10. Barahona, H., Melendez, L. V., Hunt, R. D., Forbes, M., Fraser, C. E. O., Daniel, M. D. (1975). Experimental horizontal transmission of Herpesvirus saimiri from squirrel monkeys to an owl monkey. *Journal of Infectious Diseases*, 132(6), 694-697.
11. Baskin, G. B. (1987). Disseminated cytomegalovirus infection in immunodeficient rhesus monkeys. *The American journal of pathology*, 129(2), 345.
12. Beniashvili, D. S. (1989). An overview of the world literature on spontaneous tumors in nonhuman primates. *Journal of medical primatology*, 18(6), 423-437.

13. Bertonatti, C. (1995). El comercio de primates en la República Argentina. *Neotropical Primates*, 3(2), 35-37.
14. Bertonatti, C. (2016). Un muestreo del tráfico de especies en la Argentina durante el año 2016. Fundación de Historia Natural Félix de Azara.
15. Bicca-Marques, J. C., Calegari-Marques, C. (1994). Exotic plant species can serve as staple food sources for wild howler populations. *Folia Primatologica*, 63(4), 209-211.
16. Bicca-Marques, J. C., Calegari-Marques, C. (1998). Behavioral thermoregulation in a sexually and developmentally dichromatic neotropical primate, the black-and-gold howling monkey (*Alouatta caraya*). *American Journal of Physical Anthropology: The Official Publication of the American Association of Physical Anthropologists*, 106(4), 533-546.
17. Bicca-Marques, J. C. (2003). How do howler monkeys cope with habitat fragmentation? In *Primates in fragments* (pp. 283-303). Springer, Boston, MA.
18. Bicca-Marques, J. C., Muhle, C. B., Prates, H. M., de Oliveira, S. G., Calegari-Marques, C. (2009). Habitat impoverishment and egg predation by *Alouatta caraya*. *International Journal of Primatology*, 30(5), 743-748.
19. Bicca-Marques, J. C., de Freitas, D. S. (2010). The role of monkeys, mosquitoes, and humans in the occurrence of a yellow fever outbreak in a fragmented landscape in south Brazil: protecting howler monkeys is a matter of public health. *Tropical Conservation Science*, 3(1), 78-89.
20. Bicca-Marques, J., Alves, S.L., Boubli, J., Cornejo, F.M., Cortes-Ortiz, L., Jerusalinsky, L., Ludwig, G., Martins, V., de Melo, F.R., Messias, M., Miranda, J., Rumiz, D.I., Rímoli, J., Talebi, M., Wallace, R., da Cunha, R., do Valle, R.R. 2020. *Alouatta caraya*. The IUCN Red List of Threatened Species (2020): e.T41545A17924308. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2020-2.RLTS.T41545A17924308.en>. Downloaded on 25 October 2020.
21. Bicknell, J., Peres, C. A. (2010). Vertebrate population responses to reduced-impact logging in a Neotropical forest. *Forest Ecology and Management*, 259(12), 2267-2275.
22. Binhasim, A. A., Lee, D. R., Bernacky, B. J., Rizvi, T. A. (1997). Spontaneous anaplastic large cell lymphoma in a chimpanzee: a clinicopathological and immunohistochemical study. *Journal of medical primatology*, 26(5), 260-266.
23. Boes, K. M., Durham, A. C. (2017). Bone marrow, blood cells, and the lymphoid/lymphatic system. *Pathologic basis of veterinary disease*, 724.
24. Bravo, S. P., Zunino, G. E. (2000). Germination of seeds from three species dispersed by black howler monkeys (*Alouatta caraya*). *Folia Primatologica*, 71(5), 342-345.
25. Bravo, S. P., Sallenave, A. (2003). Foraging behavior and activity patterns of *Alouatta caraya* in the northeastern Argentinean flooded forest. *International Journal*

of *Primate*, 24(4), 825-846.

26. Brown, A. D. (1994). Hábitat, densidad y problemas de conservación de los primates de Argentina. *Vida Silvestre Neotropical*, 3, 30-40.

27. Bryant, J., Wang, H., Cabezas, C., Ramirez, G., Watts, D., Russell, K., Barrett, A. (2003). Enzootic transmission of yellow fever virus in Peru. *Emerging infectious diseases*, 9(8), 926.

28. Carville, A., Mansfield, K. G. (2008). Comparative pathobiology of macaque lymphocryptoviruses. *Comparative medicine*, 58(1), 57-67.

29. Cho, Y. G., Ramer, J., Rivaller, P., Quink, C., Garber, R. L., Beier, D. R., Wang, F. (2001). An Epstein-Barr-related herpesvirus from marmoset lymphomas. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(3), 1224-1229.

30. Cianciolo, R. E., Hubbard, G. B. (2005). A review of spontaneous neoplasia in baboons (*Papio* spp.). *Journal of medical primatology*, 34(2), 51-66.

31. Cianciolo, R. E., Butler, S. D., Eggers, J. S., Dick Jr, E. J., Leland, M. M., De La Garza, M., Hubbard, G. B. (2007). Spontaneous neoplasia in the baboon (*Papio* spp.). *Journal of medical primatology*, 36(2), 61-79.

32. Clarke, M. R. (1990). Behavioral development and socialization of infants in a free-ranging group of howling monkeys (*Alouatta palliata*). *Folia Primatologica*, 54(1-2), 1-15.

33. Cohen, J. I., Davenport, D. S., Stewart, J. A., Deitchman, S., Hilliard, J. K., Chapman, L. E., B Virus Working Group. (2002). Recommendations for prevention of and therapy for exposure to B virus (*Cercopithecine herpesvirus 1*). *Clinical Infectious Diseases*, 35(10), 1191-1203.

34. Coiffier, B. (2007). Rituximab therapy in malignant lymphoma. *Oncogene*, 26(25), 3603-3613.

35. Cortés-Ortiz, L., Rylands, A. B., Mittermeier, R. A. (2015). The taxonomy of howler monkeys: integrating old and new knowledge from morphological and genetic studies. In *Howler monkeys* (pp. 55-84). Springer, New York, NY.

36. Covert, T. (2019). Black-And-Gold Howler. *Alouatta Caraya*. Recuperado 21 de noviembre de 2020, de New England Primate Conservancy website: <https://www.neprimateconservancy.org/black-and-gold-howler.html>

37. Crockett, C. M. (1984). Infanticide in red howler monkeys (*Alouatta seniculus*). *Infanticide: Comparative and evolutionary perspectives*, 173-191.

38. Crockett, C. M., Eisenberg, J. F. (1987). Howlers: variations in group size and demography. *Primate societies*, 54-68.

39. Crockett, C. M. (1998). Conservation biology of the genus *Alouatta*. *International Journal of Primatology*, 19(3), 549-578.

40. Daniel, M. D., Letvin, N. L., Sehgal, P. K., Schmidt, D. K., Silva, D. P., Solomon, K. R., y Desrosiers, R. C. (1988). Prevalence of antibodies to 3 retroviruses in a captive colony of macaque monkeys. *International journal of cancer*, 41(4), 601-608.
41. de Melo, C. M. F., Daneze, E. R., Morales-Donoso, J. A., da Rosa Sobreira, M. F. (2019). Evaluation of hematological parameters, serum biochemistry and electrophoresis of serum proteins in primates (*Alouatta caraya*) in captivity in the state of São Paulo, Brazil. *Veterinaria y Zootecnia*, 13(1), 45-56.
42. Deinhardt, F. W., Falk, L. A., Wolfe, L. G. (1974). Simian herpesviruses and neoplasia. *Advances in cancer research*, 19, 167-205.
43. Di Bitetti, M. S., Janson, C. H. (2000). When will the stork arrive? Patterns of birth seasonality in neotropical primates. *American Journal of Primatology: Official Journal of the American Society of Primatologists*, 50(2), 109-130.
44. d'Offay, J. M., Eberle, R., Sucol, Y., Schoelkopf, L., White, M. A., Valentine, B. D., Lerche, N. W. (2007). Transmission dynamics of simian T-lymphotropic virus type 1 (STLV1) in a baboon breeding colony: predominance of female-to-female transmission. *Comparative medicine*, 57(1), 105-114.
45. Ehlers, B., Spieß, K., Leendertz, F., Peeters, M., Boesch, C., Gatherer, D., McGeoch, D. J. (2009). Lymphocryptovirus phylogeny and the origins of Epstein-Barr virus.
46. Eisenberg, J. F. (1979). Habitat, economy, and society: some correlations and hypotheses for the neotropical primates. *Primate ecology and human origins*, 215-262.
47. Epstein, M. A., Barr, Y. M., Achong, B. G. (1964). A second virus-carrying tissue culture strain (eb2) of lymphoblasts from burkitt's lymphoma. *Pathologie et biologie*, 12, 1233.
48. Epstein, M. A., Hunt, R. D., Rabin, H. (1973). Pilot experiments with EB virus in owl monkeys (*Aotus trivirgatus*). I. Reticuloproliferative disease in an inoculated animal. *International journal of cancer*, 12(2), 309-318.
49. Estrada, A., Coates-Estrada, R. (1996). Tropical rain forest fragmentation and wild populations of primates at Los Tuxtlas, Mexico. *International journal of primatology*, 17(5), 759.
50. Estrada, A., Saenz, J., Harvey, C., Naranjo, E., Muñoz, D., Rosales-Meda, M. (2006). Primates in agroecosystems: conservation value of some agricultural practices in Mesoamerican landscapes. In *New Perspectives in the Study of Mesoamerican Primates* (pp. 437-470). Springer, Boston, MA.
51. Estrada, A. (2015). Conservation of *Alouatta*: social and economic drivers of habitat loss, information vacuum, and mitigating population declines. In *Howler monkeys* (pp. 383-409). Springer, New York, NY
52. Ettinger, S. N. (2003). Principles of treatment for canine lymphoma. *Clinical techniques in small animal practice*, 18(2), 92-97.

53. Falk, L., Wright, J., Deinhardt, F., Wolfe, L., Schaffer, P., Benyesh-Melnick, M. (1976). Experimental infection of squirrel and marmoset monkeys with attenuated Herpesvirus saimiri. *Cancer Research*, 36(2 Part 2), 707-710.
54. Fergnani, D. M., Kowalewski, M. M., Fernandez, V. A. (2020). Germination of native and exotic seeds dispersed by wild black-and-gold howler monkeys (*Alouatta caraya*): assessing deinhibition and scarification effects. *Primates*, 1-9.
55. Fernández-Duque, E., Wallace, R.B. y Rylands, A.B. (2008). *Alouatta caraya*. In: IUCN 2011. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2011.1. <[www.iucnredlist.org](http://www.iucnredlist.org)>. Fecha de consulta: 27 de octubre de 2020.
56. Flaiban, K. K. M. C., Spohr, K. A. H., Malanski, L. S., Svoboda, W. K., Shiozawa, M. M., Hilst, C. L. S., Lisbôa, J. A. N. (2009). Valores hematológicos de bugios pretos (*Alouatta caraya*) de vida livre da região do Alto Rio Paraná, sul do Brasil. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 61(3), 628-634.
57. Fogg, M. H., Carville, A., Cameron, J., Quink, C., Wang, F. (2005). Reduced prevalence of Epstein-Barr virus-related lymphocryptovirus infection in sera from a new world primate. *Journal of virology*, 79(15), 10069-10072.
58. Ford, S. M., Davis, L. C. (1992). Systematics and body size: implications for feeding adaptations in New World monkeys. *American Journal of Physical Anthropology*, 88(4), 415-468.
59. Frimberger, A. E. (2007). Principios de quimioterapia. En J. Ettinger, y col. Tratado de medicina interna veterinaria; enfermedades del perro y el gato (pp. 708-712) Madrid, España. Elsevier España, S.A.
60. Fultz, P. N. (1994). Simian T-lymphotropic virus type I. In *The retroviridae* (pp. 111-131). Springer, Boston, MA.
61. Garrett, L. D., Thamm, D. H., Chun, R., Dudley, R., Vail, D. M. (2002). Evaluation of a 6-month chemotherapy protocol with no maintenance therapy for dogs with lymphoma. *Journal of veterinary internal medicine*, 16(6), 704-709.
62. Geoffroy Saint-Hilaire. (1812). Tableau des quadrumanes, ou des animaux composant le premier ordre de la classe des mammifères. *Annls Mus Hist Nat Paris.*;19:85-122.
63. Gibson, D., Aubert, I., Woods, J. P., Abrams-Ogg, A., Kruth, S., Wood, R. D., Bienzle, D. (2004). Flow cytometric immunophenotype of canine lymph node aspirates. *Journal of veterinary internal medicine*, 18(5), 710-717.
64. Gilbert, K. A. (2003). Primates and fragmentation of the Amazon forest. In *Primates in fragments* (pp. 145-157). Springer, Boston, MA.
65. Glander, K. E. (1980). Reproduction and population growth in free-ranging mantled howling monkeys. *American Journal of Physical Anthropology*, 53(1), 25-36.
66. Goldner, W. (2016). Cancer-related hypercalcemia. *Journal of oncology practice*, 12(5), 426-432.

67. Hahn, B. H., Shaw, G. M., De, K. M., Sharp, P. M. (2000). AIDS as a zoonosis: scientific and public health implications. *Science*, 287(5453), 607-614.
68. Harvey, J. (1990). Tumors of lymphoid and hematopoietic tissues. *Tumors in domestic animals*, 231-307.
69. Haustein, S. V., Kolterman, A. J., Sundblad, J. J., Fechner, J. H., Knechtle, S. J. (2008). Nonhuman primate infections after organ transplantation. *ILAR journal*, 49(2), 209-219.
70. Hernandez-Camacho, J, Cooper, R. W, Thorington, R. W., y Heltne, P.G. (1976). *Neotropical primates: Field studies and conservation*. Washington, DC, USA: The National Academies Press.
71. Hill, W. C. O. (1962). *Primates: Comparative Anatomy and Taxonomy*. Cebidae (part B): a Monograph. Edinburgh, Scotland. Edinburgh University Press
72. Hirata, A., Tachikawa, Y., Hashimoto, K., Sakai, H., Kaneko, A., Suzuki, J., Yanai, T. (2013). Spontaneous T/NK-cell lymphoma associated with simian lymphocryptovirus in a Japanese macaque (*Macaca fuscata*). *Journal of comparative pathology*, 148(1), 43-46.
73. Hirsch, A. (1991). Estudo comparativo das espécies do gênero *Alouatta* Lacépède, 1799 (Platyrrhini, Atelidae) e sua distribuição geográfica na América do Sul. *A primatologia no Brasil*, 3, 239-262.
74. Hirsch, A., Dias, L. G., Martins, L. O., Campos, R. F., Landau, E. C., Resende, N. A. T. (2002). BDGEOPRIM, Database of geo-referenced localities of neotropical primates. *Neotropical Primates*, 10(2), 79-84.
75. Hladik, C. M. (1967). Surface relative du tractus digestif de quelques primates, morphologie des villosités intestinales et correlations avec le regime alimentaire. *Mammalia*, 31(1), 120-147.
76. Hofmann, P., Kahnt, K., Mätz-Rensing, K., Brack, M., Kaup, F. J. (2001). Three spontaneous lymphomas in a colony of cotton-top tamarins (*Saguinus oedipus*). *Journal of medical primatology*, 30(6), 322-327.
77. Holmberg, C. A., Henrickson, R., Anderson, J., Osburn, B. I. (1985). Malignant lymphoma in a colony of *Macaca arctoides*. *Veterinary pathology*, 22(1), 42-45.
78. Holzmann, I., Agostini, I., Areta, J. I., Ferreyra, H., Beldomenico, P., Di Bitetti, M. S. (2010). Impact of yellow fever outbreaks on two howler monkey species (*Alouatta guariba clamitans* and *A. caraya*) in Misiones, Argentina. *American Journal of Primatology: Official Journal of the American Society of Primatologists*, 72(6), 475-480.
79. Howlader, N., Noone, A. M., Krapcho, M. S. E. E. R., Neyman, N., Aminou, R., Altekruse, S. F., Mariotto, A. (2012). *SEER cancer statistics review, 1975-2009 (vintage 2009 populations)*. Bethesda, MD: National Cancer Institute, 1975-2009. Disponible en: [https://seer.cancer.gov/archive/csr/1975\\_2009\\_pops09/](https://seer.cancer.gov/archive/csr/1975_2009_pops09/), based on November 2011 SEER data submission, posted to the SEER web site, April 2012. Fecha de consulta: 1 de noviembre 2020.

80. Hubbard, G. B., Mone, J. P., Allan, J. S., Davis 3rd, K. J., Leland, M. M., Banks, P. M., Smir, B. (1993). Spontaneously generated non-Hodgkin's lymphoma in twenty-seven simian T-cell leukemia virus type 1 antibody-positive baboons (*Papio* species). *Laboratory animal science*, 43(4), 301.
81. Huff, J. L., Barry, P. A. (2003). B-virus (Cercopithecine herpesvirus 1) infection in humans and macaques: potential for zoonotic disease. *Emerging infectious diseases*, 9(2), 246.
82. Hunt, R. D., Meléndez, L. V., King, N. W., Gilmore, C. E., Daniel, M. D., Williamson, M. E., Jones, T. C. (1970). Morphology of a disease with features of malignant lymphoma in marmosets and owl monkeys inoculated with Herpesvirus saimiri. *Journal of the National Cancer Institute*, 44(2), 447-465
83. Hunt, R. D., Garcia, F. G., Barahona, H. H., King, N. W., Fraser, C. E. O., Melendez, L. V. (1973). Spontaneous Herpesvirus saimiri lymphoma in an owl monkey. *Journal of Infectious Diseases*, 127(6), 723-725.
84. Ikpatt, O. F., Reavill, D., Chatfield, J., Clubb, S., Rosenblatt, J. D., Fonte, G. y Cray, C. (2014). Diagnosis and treatment of diffuse large B-cell lymphoma in an orangutan (*Pongo pygmaeus*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 45(4), 935-940.
85. Ito, D., Brewer, S., Modiano, J. F., Beall, M. J. (2015). Development of a novel anti-canine CD20 monoclonal antibody with diagnostic and therapeutic potential. *Leukemia y lymphoma*, 56(1), 219-225.
86. Jacobs, G. H., Neitz, M., Deegan, J. F., Neitz, J. (1996). Trichromatic colour vision in New World monkeys. *Nature*, 382(6587), 156-158.
87. Jardim, M. M., Queirolo, D., Peters, F. B., Mazim, F. D., Favarini, M. O., Tirelli, F. P. y Mourthe, I. (2019). Southern extension of the geographic range of black-and-gold howler monkeys (*Alouatta caraya*). *Mammalia*, 84(1), 102-106.
88. Jeffreys, A. B., Knapp, D. W., Carlton, W. W., Thomas, R. M., Bonney, P. L., Degortari, A., Lucroy, M. D. (2005). Influence of asparaginase on a combination chemotherapy protocol for canine multicentric lymphoma. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 41(4), 221-226.
89. Jennings, C. D., Foon, K. A. (1997). Recent advances in flow cytometry: application to the diagnosis of hematologic malignancy. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 90(8), 2863-2892.
90. Jenson, H. B., Ench, Y., Zhang, Y., Gao, S. J., Arrand, J. R., Mackett, M. (2002). Characterization of an Epstein-Barr virus-related gammaherpesvirus from common marmoset (*Callithrix jacchus*) The DNA sequence reported in this study has been deposited in GenBank with the accession number AF291653. *Journal of general virology*, 83(7), 1621-1633.
91. Johnsen, D. O., Wooding, W. L., Tanticharoenyos, P., Bourgeois Jr, C. H. (1971). Malignant lymphoma in the gibbon. *Journal of the American Veterinary Medical Association*

sociation, 159(5), 563.

92. Johnson, D. R., Wolfe, L. G., Levan, G., Klein, G., Ernberg, I., Åaman, P. (1983). Epstein-barr virus (EBV)-induced lymphoproliferative disease in cotton-topped marmosets. *International Journal of Cancer*, 31(1), 91-97.

93. Kaiser, H. E. (1981). Animal neoplasms: A systemic review. *Neoplasms: Comparative Pathology in Animals, Plants, and Man*. Baltimore: Williams and Wilkins. p, 47-751.

94. Kawakami, T. G., Huff, S. D., Buckley, P. M., Dungworth, D. L., Snyder, S. P., Gilden, R. V. (1972). C-type virus associated with gibbon lymphosarcoma. *Nature New Biology*, 235(58), 170-171.

95. Kawakami, T. G., Kollias Jr, G. V., Holmberg, C. (1980). Oncogenicity of gibbon type-C myelogenous leukemia virus. *International journal of cancer*, 25(5), 641-646.

96. King, N. W., Heuschele, W. P., Reid, H. W., Stallknecht, D. E., Howerth, E. W., Richman, L. K., Castro, A. E. (2001). Herpesvirus infections. *Infectious Diseases of Wild Mammals*, 147-178. Iowa, USA. Iowa State University Press.

97. Kinzey, W. G. (1997). *Ateles*. *New World primates: Ecology, evolution and behavior*. New York, USA. Walter de Gruyter, Inc.

98. Kirkwood, J. K., James, M. P. (1983). Myeloproliferative disease in a cotton-top tamarin (*Saguinus oedipus oedipus*). *Laboratory animals*, 17(1), 70-73.

99. Kowalewski, M., Zunino, G. E. (2004). Birth seasonality in *Alouatta caraya* in Northern Argentina. *International Journal of Primatology*, 25(2), 383-400.

100. Kumar, V., Abbas, A. K., Aster, J. C. (2015). *Robbins y Cotran Patología estructural y funcional*. (pp. 579-628) Barcelona, España. Elsevier.

101. LaCépède, B. G. É. (1799). *Histoire naturelle des poissons*. Paris, France. Plassan.

102. Landon, J. C., Ellis, L. B., Zeve, V. H., Fabrizio, D. P. (1968). Herpes-type virus in cultured leukocytes from chimpanzees. *Journal of the National Cancer Institute*, 40(1), 181-192.

103. Lapin, B. A. (1973). The epidemiologic and genetic aspects of an outbreak of leukemia among *Hamadryas* baboons of the Sukhumi monkey colony. In *Unifying Concepts of Leukemia* (Vol. 39, pp. 263-268). Karger Publishers.

104. Lapin, B. A. (1975). Possible ways viral leukemia spreads among the hamadryas baboons of the Sukhumi monkey colony. In *Comparative Leukemia Research 1973* (Vol. 40, pp. 75-84). Karger Publishers.

105. Lapin, B. A. (1982). Use of nonhuman primates in cancer research. *Journal of medical primatology*, 11(6), 327-341.

106. Lapin, B. A., Yakovleva, L. A. (2014). Spontaneous and experimental malignan-

cies in non-human primates. *Journal of medical primatology*, 43(2), 100-110.

107. Lefaux, B., Duprez, R., Tanguy, M., Longeart, L., Gessain, A., Boulanger, E. (2004). Nonhuman primates might be highly susceptible to cross-species infectivity by human alpha-herpesviruses. *Veterinary pathology*, 41(3), 302-304.

108. Li, S. L., Biberfeld, P., Ernberg, I. (1994). DNA of lymphoma-associated herpesvirus (HVMF1) in SIV-infected monkeys (*Macaca fascicularis*) shows homologies to EBNA-1,-2 and-5 genes. *International journal of cancer*, 59(2), 287-295.

109. London, J. C., Malan, L. B. (1971). Seroepidemiologic studies of Epstein-Barr virus antibody in monkeys. *Journal of the National Cancer Institute*, 46(4), 881-884.

110. Louwerens, M., London, C. A., Pedersen, N. C. y Lyons, L. A. (2005). Feline lymphoma in the Post-Feline leukemia virus era. *Journal of veterinary internal medicine*, 19(3), 329-335.

111. Lovejoy, T. E., Bierregaard Jr, R. O., Rylands, A. B., Malcolm, J. R., Quintela, C. E., Harper, L. H. y Hays, M. B. (1986). Edge and other effects of isolation on Amazon forest fragments. Sunderland, Mass USA. Sinauer Associates.

112. Lowenstine, L. J. (1986). Neoplasms and proliferative disorders in nonhuman primates. In *Primates* (pp. 781-814). Springer, New York, NY.

113. Lowenstine, L. J., Lerche, N. W. (1988). Retrovirus infections of nonhuman primates: a review. *The Journal of Zoo Animal Medicine*, 168-187.

114. Lowenstine, L. J., Lerche, N. W., ee, J. L., Uyeda, A., Jennings, M. B., Munn, R. J., Gardner, M. B. (1992). Evidence for a lentiviral etiology in an epizootic of immune deficiency and lymphoma in stump-tailed macaques (*Macaca arctoides*). *Journal of medical primatology*, 21(1), 1-13.

115. MacDonald, V. S., Thamm, D. H., Kurzman, I. D., Turek, M. M., Vail, D. M. (2005). Does L-asparaginase influence efficacy or toxicity when added to a standard CHOP protocol for dogs with lymphoma? *Journal of veterinary internal medicine*, 19(5), 732-736.

116. MacEwen, E. G., Patnaik, A. K., Wilkins, R. J. (1977). Diagnosis and treatment of canine hematopoietic neoplasms. *The Veterinary Clinics of North America*, 7(1), 105.

117. Mack, D. (1979). Growth and development of infant red howling monkeys (*Alouatta seniculus*) in a free-ranging population. *Vertebrate ecology in the northern neotropics*, 127-136.

118. Madewell, B. R. (1986). Hematologic and bone marrow cytological abnormalities in 75 dogs with malignant lymphosarcoma. *J Am Amin Hosp Assoc*, 22, 223-240.

119. Mahony, O. M., Moore, A. S., Cotter, S. M., Engler, S. J., Brown, D., Penninck, D. G. (1995). Alimentary lymphoma in cats: 28 cases (1988-1993). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 207(12), 1593.

120. Mandujano, S., Escobedo-Morales, L. A., Palacios-Silva, R. (2004). Movements of *Alouatta palliata* among forest fragments in Los Tuxtlas, Mexico. *Neotropical Primates*, 12(3), 126-131.
121. Mariño Araujo, A. L., Pinto Paes, R., Melesi Brusamarello, S. M., Méndez Camacho, M. A., Acosta Dibarrat, G. L. (2004). Linfomas No-Hodgkin de células B y T primarias intestinales e infección por virus de Epstein Barr en la población uruguaya. *Arch. med. interna (Montevideo)*, 3-6.
122. Mariño Araujo, A.L, Melesi, S., Rodríguez, A., Panucio, A., Méndez, M., Eugui, E., Schiavo, L., Acosta, G., Nese, M. (2005). Linfomas sinusales de tipo NK y su asociación al Virus de Epstein Barr (VEB). Estudio morfológico e inmunohistoquímico. *Arch. Med. Interna (Montevideo)* 2-3.
123. Marr-Belvin, A. K., Carville, A. K., Fahey, M. A., Boisvert, K., Klumpp, S. A., Ohashi, M. y Westmoreland, S. V. (2008). Rhesus lymphocryptovirus type 1-associated B-cell nasal lymphoma in SIV-infected rhesus macaques. *Veterinary pathology*, 45(6), 914-921.
124. Marsh, L. K., Loiselle, B. A. (2003). Recruitment of black howler fruit trees in fragmented forests of Northern Belize. *International Journal of Primatology*, 24(1), 65-86.
125. Mätz-Rensing, K., Lowenstine, L. J. (2018). New World and Old World monkeys. In *Pathology of Wildlife and Zoo Animals* (pp. 343-374). Academic Press.
126. McClure, H. M. (1980). Neoplastic diseases in nonhuman primates: literature review and observations in an autopsy series of 2176 animals. The comparative pathology of zoo animals, 549-565. Washington, D.C.: USA. Smithsonian Institution Press
127. Melendez, L. V., Daniel, M. D., Hunt, R. D., Garcia, F. G. (1968). An apparently new herpesvirus from primary kidney cultures of the squirrel monkey (*Saimiri sciureus*). *Laboratory animal care*, 18(3), 374.
128. Melendez, L. V., Daniel, M. D., Hunt, R. D., Fraser, C. E. O., Garcia, F. G., King, N. W., Williamson, M. E. (1970). Herpesvirus saimiri. V. Further evidence to consider this virus as the etiological agent of a lethal disease in primates which resembles a malignant lymphoma. *Journal of the National Cancer Institute*, 44(5), 1175-1181.
129. Meza, A.B. y García, L.E. (2014). Citología de linfonódulos. En N.B. De Argüero (Ed.) *Atlas de citopatología veterinaria*. (pp. 313-328) Buenos Aires, Argentina: Inter-médica.
130. Miller, A. D. (2012). Neoplasia and proliferative disorders of nonhuman primates. *Nonhuman primates in biomedical research*, edited by: Abee, CR, Mansfield, K., Tardif, S., and Morris, T., Academic Press, San Diego, 2, 325-356.
131. Milton, K. (1977). The foraging strategy of the howler monkey (*Alouatta palliata*) in the tropical forest of Barro Colorado Island, Panama. Doctoral dissertation, Ph. D. dissertation, New York University, New York, USA.

132. Milton, K. (1978). Behavioral adaptations to leafeating by the mantled howler monkey (*Alouatta palliata*). *The ecology of arboreal folivores*, 535-550.
133. Milton, K. (1980). *The foraging strategy of howler monkeys: a study in primate economics*. Columbia University Press, New York, USA.
134. Milton, K. (1998). Physiological ecology of howlers (*Alouatta*): energetic and digestive considerations and comparison with the Colobinae. *International Journal of Primatology*, 19(3), 513-548.
135. Moghaddam, A., Rosenzweig, M., Lee-Parritz, D., Annis, B., Johnson, R. P., Wang, F. (1997). An animal model for acute and persistent Epstein-Barr virus infection. *Science*, 276(5321), 2030-2033.
136. Moore, A. S., London, C. A., Wood, C. A., Williams, L. E., Cotter, S. M., L'Heureux, D. A., Frimberger, A. E. (1999). Lomustine (CCNU) for the treatment of resistant lymphoma in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 13(5), 395-398.
137. Murphy, H. W., Miller, M., Ramer, J., Travis, D., Barbiere, R., Wolfe, N. D., Switzer, W. M. (2006). Implications of simian retroviruses for captive primate population management and the occupational safety of primate handlers. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 37(3), 219-233.
138. Nelson, R. W., Couto, G. C. (2000). *Medicina interna de pequeños animales*. (pp. 1199-1204). Buenos Aires, Argentina. Inter-Médica.
139. Neubauer, R. H., Rabin, H., Strnad, B. C., Lapin, B. A.,akovleva, L. A., Indzie, E. (1979). Antibody responses to Herpesvirus papio antigens in baboons with lymphoma. *International Journal of Cancer*, 23(2), 186-192.
140. Neville M. K., Glander K. E., Braza F., Rylands A.B., (1988) The howling monkeys, genus *Alouatta* . In: Mittermeier R.A., Rylands A. B., Coimbra-Filho A. F., da Fonseca GAB (eds) *Ecology and behavior of neotropical primates*, vol 2. Springer, Washington, DC.
141. Nunn, C., Altizer, S., Altizer, S. M. (2006). *Infectious diseases in primates: behavior, ecology and evolution*. Oxford University Press.
142. Oklander, L. I. (2006). *Estructura social, y relaciones de parentesco en poblaciones silvestres de monos aulladores (*Alouatta caraya*) del noreste argentino* (Doctoral dissertation, Tesis Doctoral de la Universidad de Buenos Aires en el área Biología. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires). 133-14-
143. Page, R. C., Schectman, L., Ammons, W. F., Dillingham, L. (1974). Spontaneous malignant lymphoma in a new-world primate. *Veterinary pathology*, 11(1), 52-59.
144. Pavelka, M. S., Knopff, K. H. (2004). Diet and activity in black howler monkeys (*Alouatta pigra*) in southern Belize: does degree of frugivory influence activity level?. *Primates*, 45(2), 105-111.

145. Peeters, M., Cournaud, V., Abela, B., Auzel, P., Pourrut, X., Bibollet-Ruche, F., Mpoudi-Ngole, E. (2002). Risk to human health from a plethora of simian immunodeficiency viruses in primate bushmeat. *Emerging infectious diseases*, 8(5), 451.
146. Printes, R. C., Liesenfeld, M. V., Jerusalinsky, L. (2001). *Alouatta guariba clamitans* Cabrera, 1940: A new southern limit for the species and for Neotropical primates. *Neotropical Primates*, 9(3), 118-121.
147. Ramer, J. C., Garber, R. L., Steele, K. E., Boyson, J. F., O'Rourke, C., Thomson, J. A. (2000). Fatal lymphoproliferative disease associated with a novel gammaherpesvirus in a captive population of common marmosets. *Comparative medicine*, 50(1), 59-68.
148. Rangan, S. R. S. (1976). Oncornavirus particles in lymphoid cultures from a howler monkey with herpesvirus saimiri-induced disease. *Journal of the National Cancer Institute*, 57(4), 951-953.
149. Rangan, S. R. S., Martin, L. N., Enright, F. M., Abee, C. R. (1977). Herpesvirus saimiri-Induced Lymphoproliferative Disease in Howler Monkeys. *Journal of the National Cancer Institute*, 59(1), 165-171
150. Rangan, S. R. S., Martin, L. N., Bozelka, B. E., Wang, N., Gormus, B. J. (1986). Epstein-barr virus-related herpesvirus from a rhesus monkey (*Macaca Mulatta*) with malignant lymphoma. *International journal of cancer*, 38(3), 425-432.
151. Rao, P., Jiang, H., Wang, F. (2000). Cloning of the rhesus lymphocryptovirus viral capsid antigen and Epstein-Barr virus-encoded small RNA homologues and use in diagnosis of acute and persistent infections. *Journal of clinical microbiology*, 38(9), 3219-3225.
152. Rasheed, S., Rongey, R. W., Bruszweski, J., Nelson-Rees, W. A., Rabin, H., Neubauer, R. H., Gardner, M. B. (1977). Establishment of a cell line with associated Epstein-Barr-like virus from a leukemic orangutan. *Science*, 198(4315), 407-409.
153. Rassnick, K. M., Mauldin, G. E., Al-Sarraf, R., Mauldin, G. N., Moore, A. S., Mooney, S. C. (2002). MOPP chemotherapy for treatment of resistant lymphoma in dogs: a retrospective study of 117 cases (1989-2000). *Journal of veterinary internal medicine*, 16(5), 576-580.
154. Remick, A. K., Van Wettere, A. J., Williams, C. V. (2009). Neoplasia in prosimians: case series from a captive prosimian population and literature review. *Veterinary pathology*, 46(4), 746-772.
155. Rivadeneira, E. D., Ferrari, M. G., Jarrett, R. F., Armstrong, A. A., Markham, P., Birkebak, T. y Franchini, G. (1999). A novel Epstein-Barr virus-like virus, HVMNE, in a *Macaca nemestrina* with mycosis fungoides. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 94(6), 2090-2101.
156. Rivaller, P., Jiang, H., Cho, Y. G., Quink, C., Wang, F. (2002). Complete nucleotide sequence of the rhesus lymphocryptovirus: genetic validation for an Epstein-Barr virus animal model. *Journal of Virology*, 76(1), 421-426.

157. Roizman, B. (1996). Herpesviridae. *Fields virology*, 2221-2230.
158. Rosenberger, A.L (1981). *Systematics: the higher taxa*. In *Ecology and behavior of Neotropical Primates*, Vol. 1, (A.F. Coimbra-Filho and R. Mittermeier, Eds.), pp. 9-27, Academia Brasileira de Ciencias, Rio de Janeiro.
159. Rosenwirth, B., Kondova, I., Niphuis, H., Greenwood, E. J., Schmidt, F., Verschoor, E. J. y Koopman, G. (2011). Herpesvirus saimiri infection of rhesus macaques: A model for acute rhadinovirus-induced t-cell transformation and oncogenesis. *Journal of medical virology*, 83(11), 1938-1950.
160. Rotta, G. (2016). *Ecología trófica de los monos aulladores negros y dorados (Alouatta caraya, Atelidae) en el gradiente latitudinal de la selva de inundación del río Paraná Medio* (Doctoral dissertation, Facultad de Ciencias Naturales y Museo).
161. Ruch, T. C. (1959). *Diseases of Laboratory Primates*. W.B. Saunders Co., London, UK. 254 - 311
162. Rudran R (1979) The demography and social mobility of a red howler ( *Alouatta seniculus* ) population in Venezuela. En: Eisenberg JF (ed) *Vertebrate ecology in the northern Neotropics*. Smithsonian, Washington, DC.
163. Rudran, R., Fernandez-Duque, E. (2003). Demographic changes over thirty years in a red howler population in Venezuela. *International Journal of Primatology*, 24(5), 925-947.
164. Rumiz, D. I. (1990). *Alouatta caraya*: population density and demography in northern Argentina. *American Journal of Primatology*, 21(4), 279-294.
165. Sallis, E. S. V., de Barros, V. L. R. S., Garmatz, S. L., Figuera, R. A., Graça, D. L. (2003). A case of yellow fever in a brown howler (*Alouatta fusca*) in Southern Brazil. *Journal of veterinary diagnostic investigation*, 15(6), 574-576.
166. Schätzl, H., Tschikobava, M., Rose, D., Voevodin, A., Nitschko, H., Sieger, E. y Lapin, B. (1993). The Sukhumi primate monkey model for viral lymphomogenesis: High incidence of lymphomas with presence of STLV-I and EBV-like virus. *Leukemia*, 7, S86.
167. Schneider, P. (1975). Malignant Lymphoma Resembling Burkitt's Tumour in Rhesus Monkeys (Light-and Electron Microscopic Studies). *Beiträge zur pathologie*, 155(3), 285-296.
168. Seelig, D. M., Avery, A. C., Ehrhart, E. J., Linden, M. A. (2016). The comparative diagnostic features of canine and human lymphoma. *Veterinary sciences*, 3(2), 11.
169. Shoemaker AH (1978) Observations on howler monkeys, *Alouatta caraya* in captivity. *Zool Garten* 48:225-234.
170. Shope, T., Dechairo, D., Miller, G. (1973). Malignant lymphoma in cottontop marmosets after inoculation with Epstein-Barr virus. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 70(9), 2487-2491.

171. Simmons, H. A., Mattison, J. A. (2011). The incidence of spontaneous neoplasia in two populations of captive rhesus macaques (*Macaca mulatta*). *Antioxidants & redox signaling*, 14(2), 221-227.
172. Simon, D., Nolte, I., Eberle, N., Abbrederis, N., Killich, M., Hirschberger, J. (2006). Treatment of dogs with lymphoma using a 12-week, maintenance-free combination chemotherapy protocol. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 20(4), 948-954.
173. Souquiere, S., Mouinga Ondeme, A., Makuwa, M., Beggio, P., Radaelli, A., De Giuli Morghen, C. y Kazanji, M. (2009). T Cell tropism of simian T cell leukaemia virus type 1 and cytokine profiles in relation to proviral load and immunological changes during chronic infection of naturally infected mandrills (*Mandrillus sphinx*). *Journal of medical primatology*, 38(4), 279-289.
174. Sözmen, M., Tasca, S., Carli, E., Lorenzi, D. D., Furlanello, T., Caldin, M. (2005). Use of fine needle aspirates and flow cytometry for the diagnosis, classification, and immunophenotyping of canine lymphomas. *Journal of veterinary diagnostic investigation*, 17(4), 323-329.
175. Stowell, R. E., Smith, E. K., Espana, C., Nelson, V. G. (1971). Outbreak of malignant lymphoma in rhesus monkeys. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology*, 25(5), 476.
176. Suzuki, J., Goto, S., Kato, A., Hashimoto, C., Miwa, N., Takao, S. y Isowa, K. (2005). Malignant NK/T-cell lymphoma associated with simian Epstein-Barr virus infection in a Japanese macaque (*Macaca fuscata*). *Experimental animals*, 54(1), 101-105.
177. Swerdlow, S. H., Campo, E., Pileri, S. A., Harris, N. L., Stein, H., Siebert, R., Jaffe, E. S. (2016). The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood*, 127(20), 2375-2390.
178. Terrell, T. G., Gribble, D. H., Osburn, B. I. (1980). Malignant lymphoma in macaques: a clinicopathologic study of 45 cases. *Journal of the National Cancer Institute*, 64(3), 561-568.
179. Teske, E., Van Heerde, P., Rutteman, G. R., Kurzman, I. D., Moore, P. F., MacEwen, E. G. (1994). Prognostic factors for treatment of malignant lymphoma in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 205(12), 1722-1728.
180. Thorington Jr, R. W., Rudran, R., Mack, D. (1979). Sexual dimorphism of *Alouatta seniculus* and observations on capture techniques. *Vertebrate ecology in the northern neotropics*, 97-106.
181. Vail, D.M., Thamm, D.H. (2007). Tumores hematopoyéticos. En J. Ettinger, y col. *Tratado de medicina interna veterinaria; enfermedades del perro y el gato*. Madrid, España. Elsevier España, S.A.
182. Vail, D.M., Young, K.M. (2007). Chapter 31. Hematopoietic tumors. En S. J. Withrow y D. M. (Ed). *Withrow and MacEwen's small animal clinical oncology*. (pp. 699-784). St. Louis, United States: Elsevier Inc.

183. Vail, D. M., Michels, G. M., Khanna, C., Selting, K. A., London, C. A., Veterinary Cooperative Oncology Group. (2010). Response evaluation criteria for peripheral nodal lymphoma in dogs (v1. 0)-a Veterinary Cooperative Oncology Group (VCOG) consensus document. *Veterinary and comparative oncology*, 8(1), 28-37.
184. Valle, R. D. R. D., Zacarias, F. C., Alves, F. A., Muniz, J. A. P. C. (2002). Perfil hematológico e bioquímico de um grupo de *Alouatta caraya* mantido em cativeiro no Centro Nacional de Primatas: dados preliminares.
185. Valli, V. E. O., Kiupel, M., Bienzle, D., Wood, R. D. (2015). Hematopoietic system. *Jubb, Kennedy, and Palmer's pathology of domestic animals*, 3, 102-268.
186. Vasiljeva, V. A., Markarjan, D. S., Lapin, B. A., Yakovleva, L. A., Ivanov, M. T., Schekolodkin, V. F., & Dzikidze, E. K. (1974). Establishment of continuous cell lines from leukocytes culture of a *hamadryas* baboon with leukosis-reticulosis. *Neoplasma*, 21(5), 537-544.
187. Villalba, J. S., Prigioni, C. M., Sappa, A. C. (1995). Sobre la posible presencia de *Alouatta caraya* en Uruguay. *Neotropical primates*, 3 (4): 173-174.
188. Villamizar-Rivera, N., Olaya-Morales, N. (2015). Determinación de la clonalidad en tejidos humanos. *Iatreia*, 28(3), pág-269.
189. Weigler, B. J. (1992). Biology of B virus in macaque and human hosts: a review. *Clinical Infectious Diseases*, 14(2), 555-567.
190. Welter, R. E. (1985). Paraneoplastic disorders in dogs with hematopoietic tumors. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 15(4), 805-816.
191. Wilkerson, M. J., Dolce, K., Koopman, T., Shuman, W., Chun, R., Garrett, L. y Avery, A. (2005). Lineage differentiation of canine lymphoma/leukemias and aberrant expression of CD molecules. *Veterinary immunology and immunopathology*, 106(3-4), 179-196.
192. Withrow, S. J. (2007). *Withrow and MacEwen's small animal clinical oncology*. St Louis, USA. Elsevier Health Sciences.
193. Wolfe, L. G., Falk, L. A., Deinhardt, F. (1971). Oncogenicity of Herpesvirus saimiri Marmoset Monkeys. *Journal of the National Cancer Institute*, 47(5), 1145-1162.
194. Wolfe, N. D., Switzer, W. M., Heneine, W. (2006). Emergence of novel retroviruses. *Emerging Infections* 7, 139-152.
195. Wutzler, P., Meerbach, A., Färber, I., Wolf, H., Scheibner, K. (1995). Malignant lymphomas induced by an Epstein-Barr virus-related herpesvirus from *Macaca arctoides*—a rabbit model. *Archives of virology*, 140(11), 1979-1995.
196. Yakovleva, L. A. (1970). Studies on the conjectural virus nature of human leukemia in experiments on monkeys. In *Comparative Leukemia Research 1969* (Vol. 36, pp. 761-772). Karger Publishers.

197. Ybarra, M. A. S., Schön, M. A. (1987). Positional behavior and limb bone adaptations in red howling monkeys (*Alouatta seniculus*). *Folia Primatologica*, 49(2), 70-89.
198. Youlatos, D., Couette, S., Halenar, L. B. (2015). Morphology of howler monkeys: a review and quantitative analyses. In *Howler monkeys* (pp. 133-176). Springer, New York, NY.
199. Zunino, G. E. (1986). Algunos aspectos de la ecología y etología del mono aullador negro (*Alouatta caraya*) en hábitat fragmentados. Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.
200. Zunino, G. (1989). Hábitat, dieta y actividad del mono aullador negro (*Alouatta caraya*) en el noreste de la Argentina. *Boletín Latinoamericano de Primatología*, 1.
201. Zunino, G. E., Bravo, S., Ferreira, F. M., Reisenman, C. (1996). Characteristics of two types of habitat and the status of the howler monkey (*Alouatta caraya*) in northern Argentina. *Neotropical Primates*, 4(2), 48-50.