



Facultad de Veterinaria  
Universidad de la República  
Uruguay



**SLOVET**

SOCIEDAD LATINOAMERICANA DE ONCOLOGÍA VETERINARIA



UNIVERSIDAD  
DE LA REPÚBLICA  
URUGUAY

# EVALUACIÓN DE ÍNDICES DE PROLIFERACIÓN UTILIZANDO KI-67 PARA LA CARACTERIZACIÓN DE LINFOMAS CANINOS MULTICÉNTRICOS

ASSESSMENT OF PROLIFERATION INDICES USING KI-67 FOR  
THE CHARACTERIZATION OF MULTICENTRIC CANINE LYMPHOMAS

FLORENCIA MOSQUILLO, PAULA PESSINA, ROSINA SÁNCHEZ

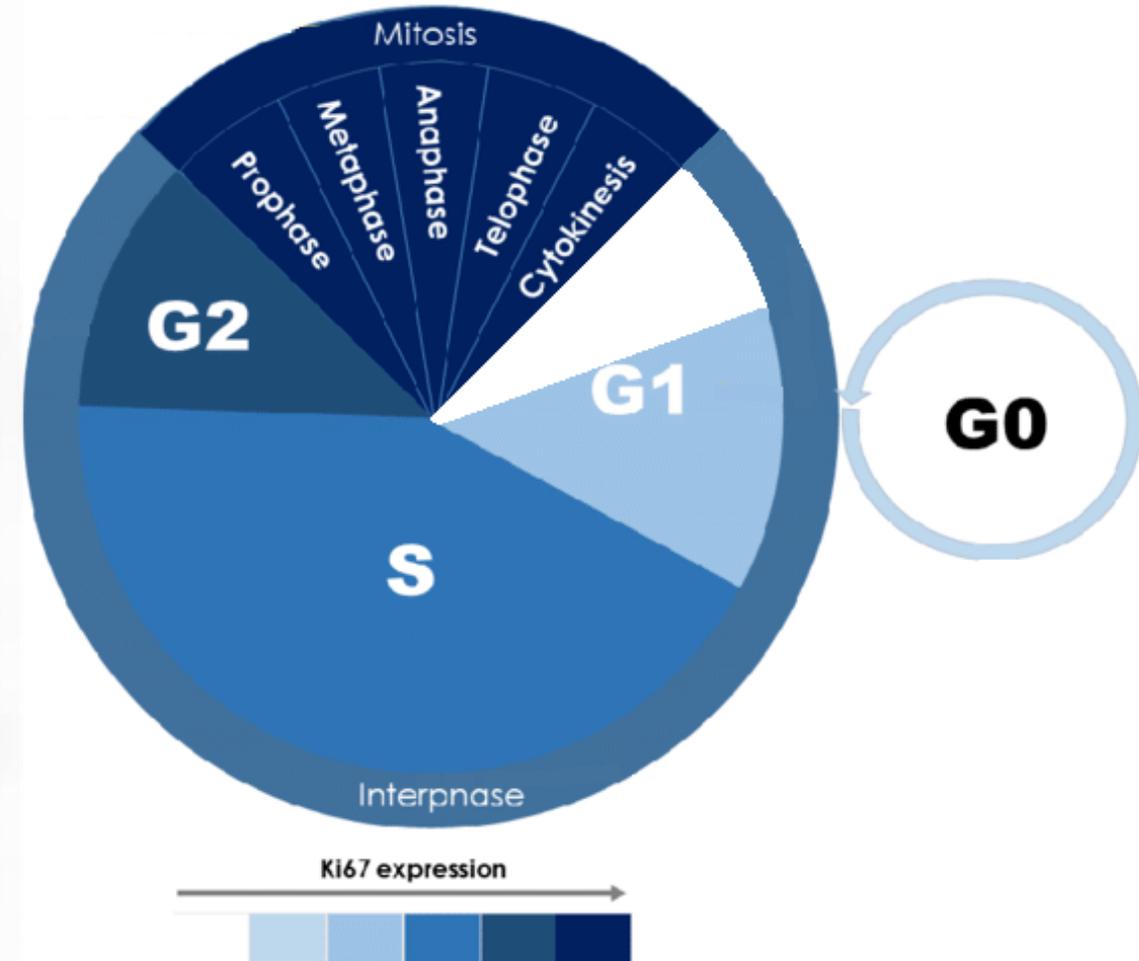
FACULTAD DE VETERINARIA – UDELAR – URUGUAY



# INTRODUCCIÓN

KI-67 ES UNA PROTEÍNA NUCLEAR QUE SE EXPRESA DURANTE LAS FASES G1 TARDÍA, S, G2 Y M DEL CICLO CELULAR.

SU EXPRESIÓN ES ÚTIL PARA DETECTAR Y CUANTIFICAR CÉLULAS EN PROLIFERACIÓN EN ENFERMEDADES NEOPLÁSICAS.





# LINFOMAS CANINOS

La evaluación de la proliferación celular mediante el marcador nuclear KI-67 ha mostrado una correlación significativa con el grado de malignidad del linfoma.

Estudios anteriores han determinado un valor de corte en los ensayos de citometría de flujo (12,2% de células positivas a KI-67) para diferenciar los linfomas de bajo y alto grado (Poggi, 2015).

# OBJETIVO PRINCIPAL

CLASIFICAR LOS LINFOMAS CANINOS  
EN BAJO Y ALTO GRADO UTILIZANDO  
EL MARCADOR NUCLEAR KI-67  
MEDIANTE CITOMETRÍA DE FLUJO.



# METODOLOGÍA

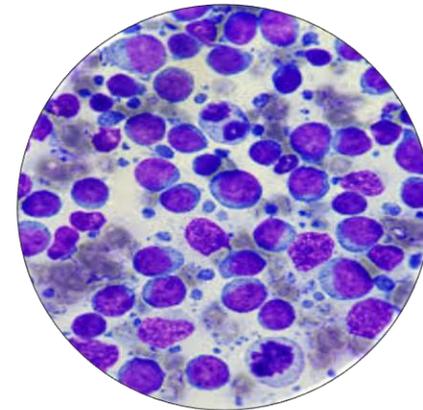


Se incluyeron prospectivamente **37 perros** diagnosticados con linfoma multicéntrico atendidos en el Hospital Veterinario de Uruguay entre marzo del 2022 y julio del 2024, previo a recibir cualquier tratamiento.

Protocolo Comisión de Ética en el Uso de Animales (CEUA) N°801.  
Número de expediente: 111900-000780-19.

Se tomaron dos muestras de punción-aspiración con aguja fina (PAAF) de nódulos linfáticos aumentados de tamaño para diagnóstico por **citología** e inmunofenotipificación por **citometría de flujo**.

12 LT/CD45-, 5 LT/CD45+, 20 LB.



# METODOLOGÍA



**Anticuerpo:** anti-KI67-FITC (clon MIB-1 de BIO-RAD)  
Anti-humano con reactividad cruzada con perro



**Kit de fijación y permeabilización celular:** BD  
CYTOFIX/CYTOPERM FIXATION/PERMEABILIZATION



**Citómetro de flujo:** Accuri C6 de BD Biosciencias  
Láser azul 488 nm y detector para FITC (exc498/em517)

# METODOLOGÍA



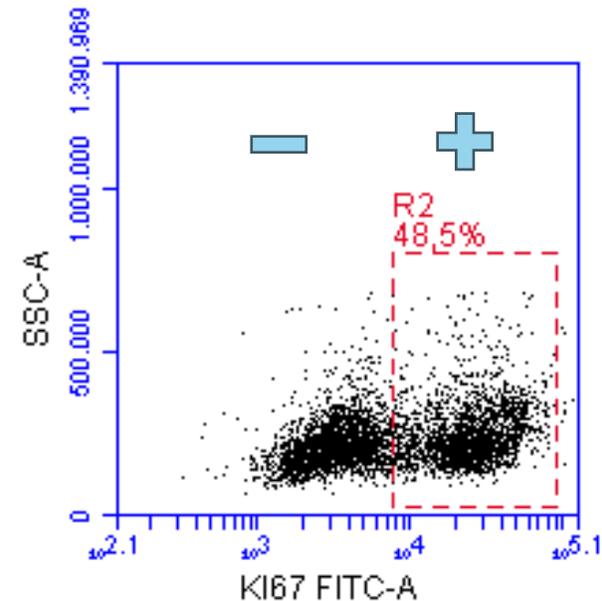
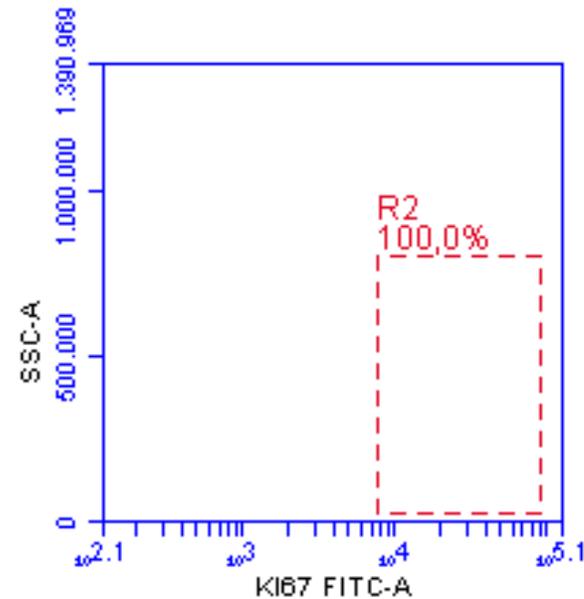
BD CYTOFIX/CYTOPERM FIXATION/PERMEABILIZATION KIT



# METODOLOGÍA

Se determina la población linfocítica a partir del gráfico de dispersión frontal (FSC) *vs* dispersión lateral (SSC), y se seleccionan los singuletes.

El porcentaje de células KI-67 positivas se calculó a partir del gráfico de dispersión lateral (SSC) *vs* intensidad de fluorescencia KI67-FITC.



# METODOLOGÍA: CLASIFICACIONES

## GRADO DE MALIGNIDAD DEL LINFOMA

PUNTO DE CORTE: 12,2%  
DE CÉLULAS POSITIVAS A KI-67

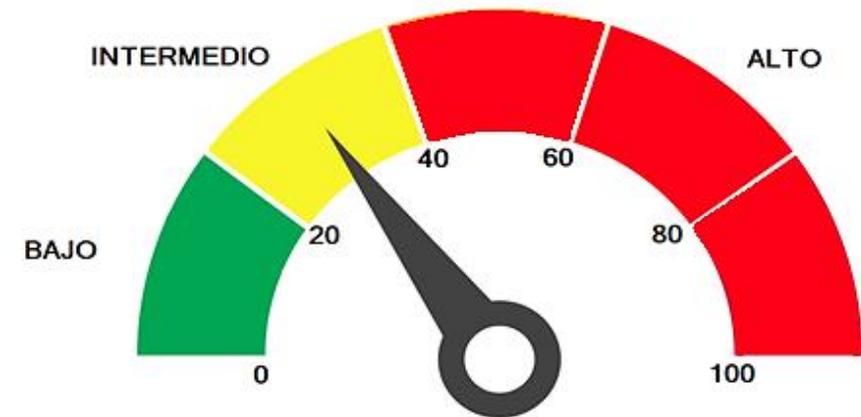


## NIVEL DE EXPRESIÓN DE KI-67

BAJO:  $\leq 20\%$

INTERMEDIO: 20,1-40%

ALTO:  $>40\%$



# RESULTADOS

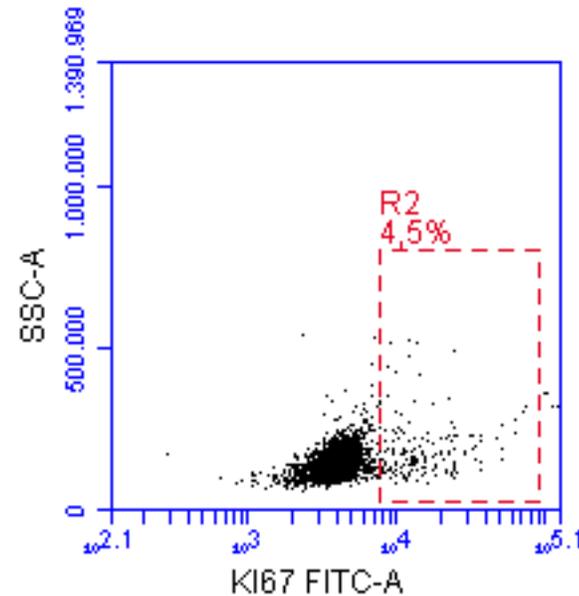
## LINFOMAS T CD45-

n = 12 LT/CD45-

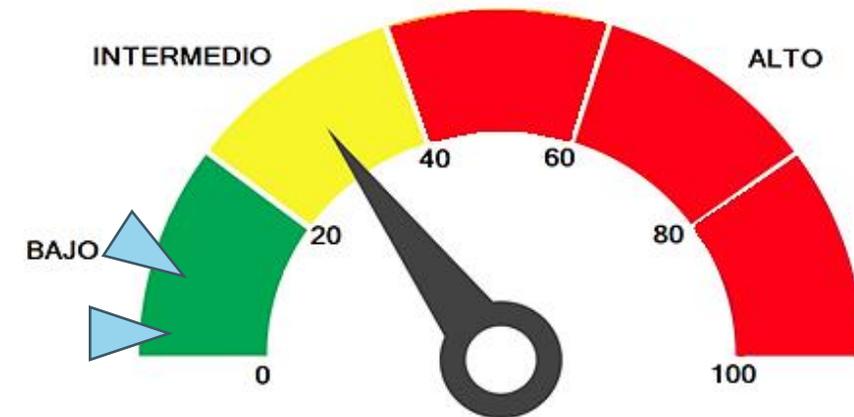
Marcadores:  
CD45-/CD3+/CD5+/CD4 y/o CD8

Todos se clasificaron como linfomas de **bajo grado** (<12,2%).

Nivel de expresión **bajo** (0,1 a 7,1%; mediana = 1,35%).



EXPRESIÓN BAJA



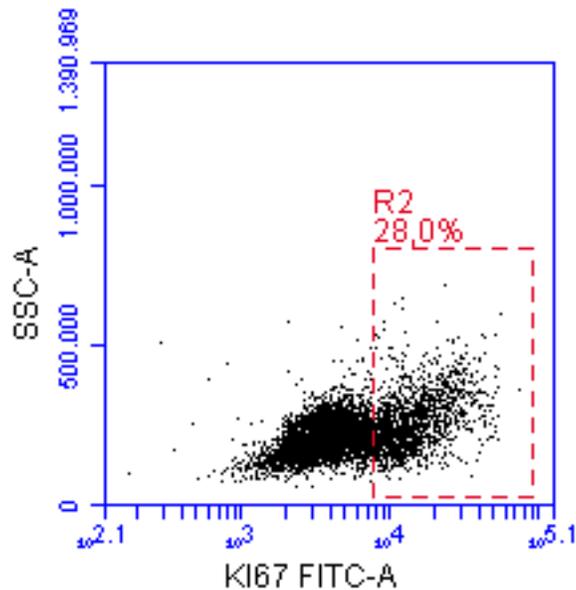
# RESULTADOS

## LINFOMAS T CD45+

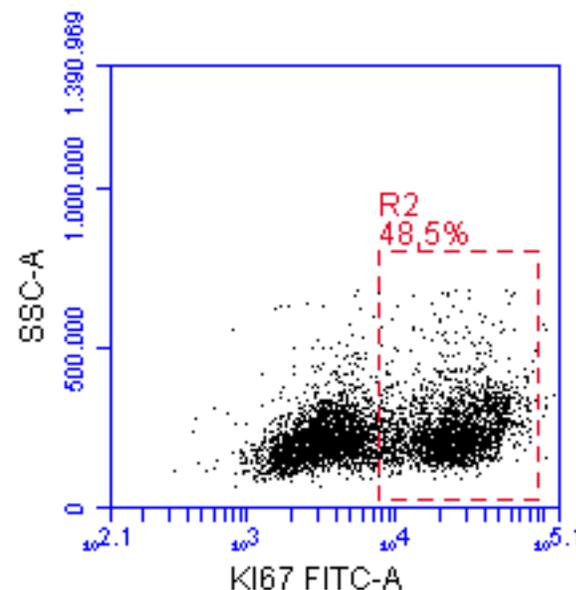
n = 5 LT/CD45+

Marcadores:  
CD45+/CD3+/CD5+/CD4 y/o CD8

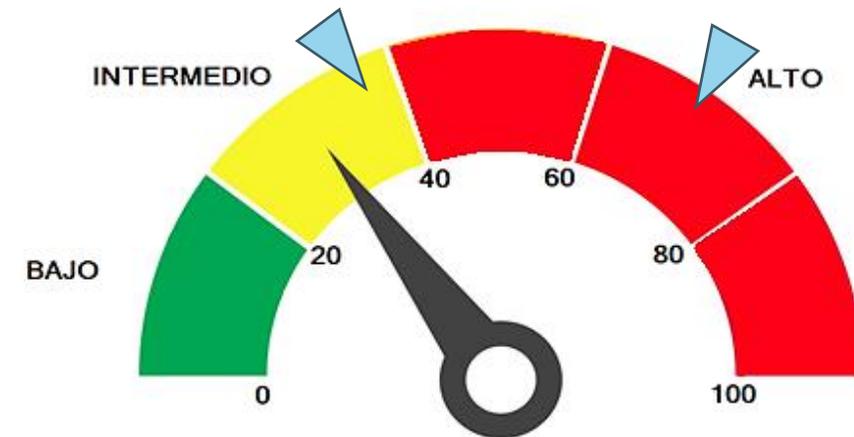
Todos se clasificaron como linfomas de **alto grado** (>12,2%).  
Nivel de expresión **intermedio-alto** (35,9 a 71,3%; mediana = 53%).



EXPRESIÓN  
INTERMEDIA



EXPRESIÓN ALTA

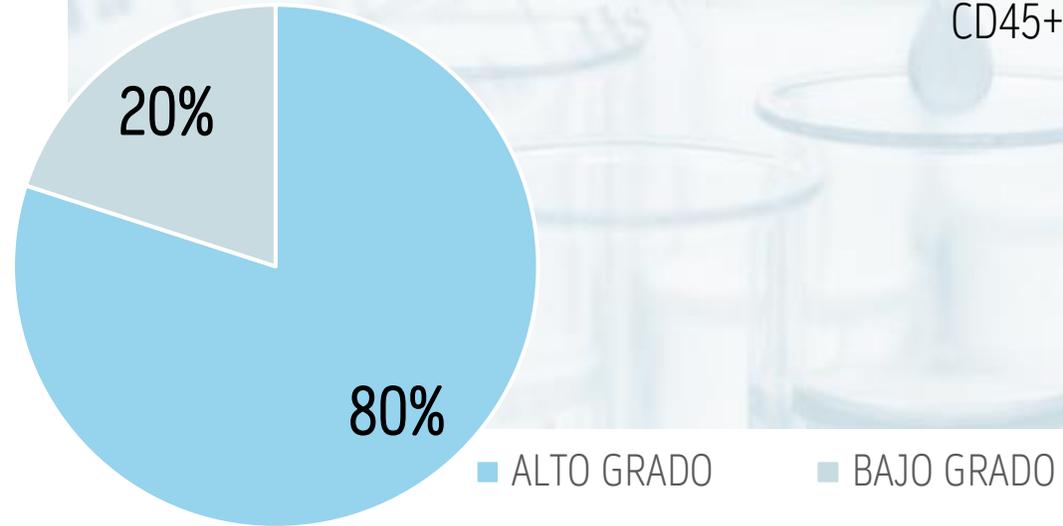


# RESULTADOS

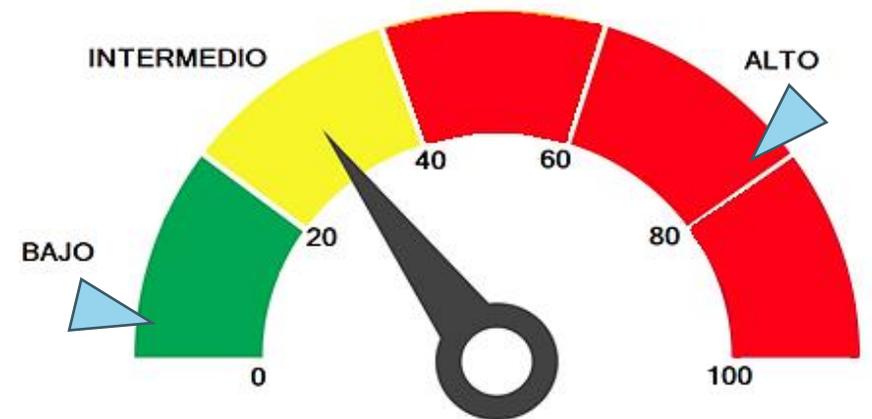
## LINFOMAS B

n = 20 LB

Marcadores:  
CD45+/CD21+/CD79a+



La expresión de KI-67 mostró el rango más amplio de positividad (2,8 a 79,6 %, mediana = 21,5 %).

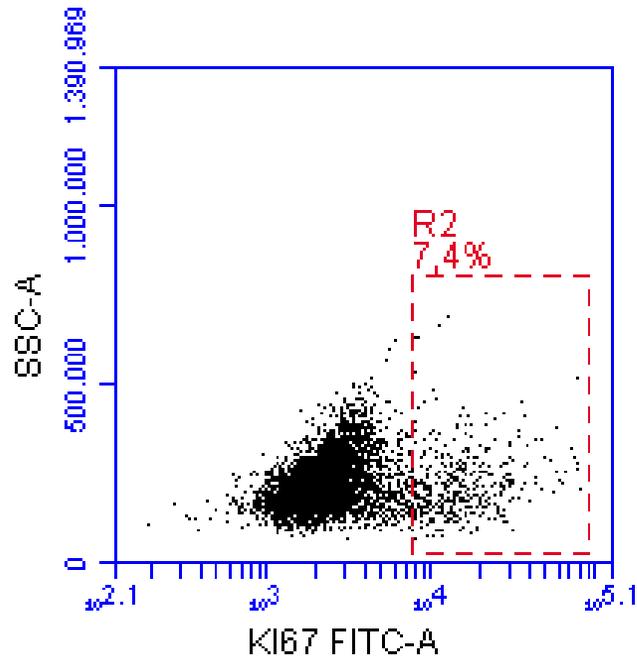


# RESULTADOS

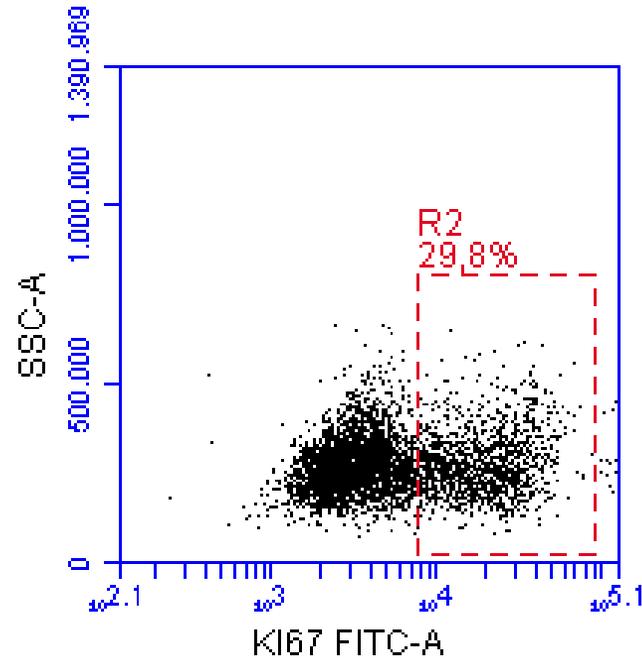
## LINFOMAS B

n = 20 LB

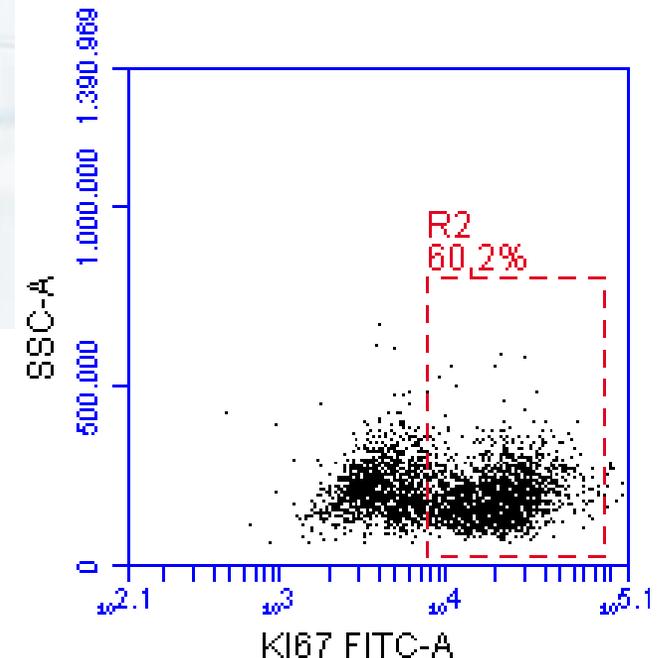
Marcadores:  
CD45+/CD21+/CD79a+



EXPRESIÓN BAJA



EXPRESIÓN INTERMEDIA



EXPRESIÓN ALTA

# DISCUSIÓN



## PUNTOS DE CORTE



Determinar y correlacionar la malignidad de los linfomas mediante citometría de flujo y citología para ajustar el punto de corte de la literatura (12.2% Poggi, 2015).



## VALOR PRONÓSTICO

Controversia: debido a la heterogeneidad de los grupos de linfomas analizados y a los tratamientos aplicados.

LB de alto grado → expresión intermedia de KI-67 → pacientes con mejor pronóstico.

Perros tratados con un protocolo modificado de Wisconsin-Madison (UW-25) tuvieron significativamente mayores tiempos de supervivencia específica de linfoma e intervalos libres de recaída (Poggi, 2017).

LB de células pequeñas nodales → baja expresión de KI-67 ( $\leq 11\%$ ) → pacientes con mejor pronóstico.

Perros tratados con CHOP presentaron significativamente más tiempo de supervivencia global (Rout, 2022).



Estandarización de protocolos de tratamientos para estudiar valor pronóstico en los subtipos de linfomas multicéntricos.

# CONCLUSIONES

La cuantificación de la marcación con KI-67 es una herramienta útil y práctica para clasificar el grado de malignidad de los linfomas caninos multicéntricos.





# SERVICIO DE INMUNOFENOTIPIFICACIÓN DE LINFOMAS Y LEUCEMIAS CANINOS



PAULA  
PESSINA

Metabolómica  
en caninos



ROSINA  
SÁNCHEZ SOLÉ

Usos y limitaciones  
Citometría de flujo



PATRICIA  
LINDIMAN

Citometría de flujo  
en felinos



MELANIE  
BAZZANO

Caso clínico



FLORENCIA  
MOSQUILLO



**EN VIVO**



**¡MUCHAS GRACIAS!**

---

FLORENCIA MOSQUILLO  
MMOSQUILLO@GMAIL.COM