



***MÁSTER EN
INICIACIÓN A
LA
INVESTIGACIÓN
EN CIENCIAS
VETERINARIAS.
TRABAJO FIN
DE MÁSTER***

***TUMORES DE MAMA EN PERRAS COMO
MODELO DE CÁNCER.
ESTUDIO DE SU CASUÍSTICA EN EL
HOSPITAL VETERINARIO DE ZARAGOZA
DURANTE EL CURSO 2011-2012***

***DIRIGIDO POR EL DR. MARCELO DE LAS HERAS
Y LA DRA. M^a CARMEN ACEÑA FABIÁN.***

|Departamento de Patología Animal. Facultad de Veterinaria.
Universidad de Zaragoza.

MARÍA URR PALOS

Zaragoza, 12 de Septiembre de 2012

Índice

1. Resumen y palabras clave	3
2. Introducción/ justificación e importancia del tema elegido.....	4
3. Objetivos del trabajo.....	24
4. Metodología.....	25
5. Resultados y discusión.....	42
6. Conclusiones.....	49
7. Referencias bibliográficas.....	50
8. Anexos.....	56
9. Agradecimientos.....	60

1.- Resumen

Los tumores mamarios son el tipo de tumor que con más frecuencia aparecen en perras enteras, y más en nuestro país donde la esterilización rutinaria en perras jóvenes (antes de los dos años de edad) no se realiza de forma rutinaria. Dicha práctica a edades tempranas, representa el mejor procedimiento para la prevención de dichos tumores.

Este trabajo aborda los tumores mamarios caninos (TMC) tanto desde un punto de vista clínico como anatomo-patológico. Se describen las características clínicas, el procedimiento diagnóstico, haciendo hincapié en el examen citológico y en la obtención de las distintas muestras tumorales. En el segundo se describe histológicamente la glándula mamaria normal y la importancia de la obtención de un diagnóstico histológico para determinar el pronóstico y el tratamiento más adecuado en cada caso. Asimismo se realiza un análisis de los casos clínicos recibidos en el Servicio de Oncología del Hospital Veterinario de la Universidad de Zaragoza durante el curso 2011-2012, observando un mayor número de casos de tumores benignos que malignos. Además este trabajo contempla otros objetivos tales como establecer las bases para la creación de un Banco de tumores mamarios en pequeños animales. Para ello es necesaria la creación de un protocolo normalizado de trabajo (PNT) para la toma de muestras y almacenamiento de los tumores de mama caninos y felinos, que permita que el trabajo desarrollado sea reproducible y garantice la continuidad del mismo.

Palabras clave: tumores de mama, especie canina, citología, clasificación histológica, Banco de tumores, base de datos de TMC.

2.- Introducción

En la actualidad, desgraciadamente, la prevalencia del cáncer en los animales domésticos va en aumento y representa la principal causa de muerte de los mismos. Ello es debido a una gran variedad de razones pero principalmente a que viven más años y por ello aumenta la probabilidad a desarrollar neoplasias. La edad media de padecer neoplasias se sitúa entre los 8 y 10 años disminuyendo a continuación a partir de los 10. Su desarrollo se debe a factores genéticos, ambientales (exposición a pesticidas, herbicidas, insecticidas, tabaco o radiaciones), lesiones inflamatorias crónicas o a factores hormonales.

La mejora en su calidad de vida es consecuencia de una buena alimentación, vacunas frente a distintas enfermedades infecciosas y mejor actuación de los clínicos veterinarios (formación continuada, medicina preventiva y tratamientos). Asimismo, el papel que nuestras mascotas desempeñan en el ámbito familiar y los lazos que con ellos se crean, hacen que aumente la preocupación por su bienestar aportándoles todos los cuidados posibles y por lo tanto esperando una actuación veterinaria de calidad. Deberemos mostrar empatía con el propietario y compasión por su mascota haciéndole saber, que haremos todo lo posible por mantener a lo largo del transcurso de la enfermedad su calidad de vida aconsejándole los tratamientos más óptimos (quimioterapia, tratamientos paliativos e incluso la eutanasia) e informándole del pronóstico.

Existen una gran variedad de neoplasias que pueden desarrollar los perros, pero en el presente trabajo los tumores mamarios caninos serán el objeto de nuestra investigación.

Los **tumores mamarios caninos (TMC)** son las neoplasias que aparecen con más frecuencia en las perras. Aunque mayoritariamente aparecen en hembras (62 veces mayor riesgo de aparición que en machos) también se han descrito en los machos con una incidencia de hasta un 2,5%.

La esterilización antes del primer celo ha demostrado ser muy eficaz para evitar la aparición de los TMC. En países anglosajones, donde es habitual esta práctica, la incidencia de este tipo de tumores es prácticamente inexistente.

La presentación clásica de una perra con tumores de mama es la de una hembra entera con una edad comprendida entre 9 y 11 años con uno o varios tumores palpables que afecten a una o ambas cadenas mamarias y que clínicamente no padece signos de enfermedad a menos que sufra otra enfermedad concomitante (a excepción de las que tienen una forma clínica especial denominada Carcinoma inflamatorio).

La mayoría de las hembras desarrollan 5 pares de glándulas mamarias, divididas en dos cadenas: derecha (“right”, R) e izquierda (“left” ,L) ,aunque algunas pueden desarrollar 4 o 6 pares de manera excepcional. Normalmente existen dos mamas torácicas, dos abdominales y una inguinal. Se nombran de forma habitual con un número que indica su posición en la cadena (1, 2,3,4,5) y una letra ,R o L ,para mostrar a que cadena, derecha o izquierda, pertenece.

La glándula mamaria es una glándula apocrina modificada que aparece solo en mamíferos. Está formada por una red de conductos rodeados de un estroma fibrovascular y rico en tejido adiposo. El desarrollo de esta glándula es único en el cual las últimas fases del desarrollo ocurren en la hembra adulta durante la gestación. Con cada gestación se produce una proliferación de los conductos, una diferenciación de los acinis productores de leche y una involución, finalmente, de los componentes secretores de la glándula preservando la estructura de los conductos. Cada mama posee entre 7 y 16 conductos y cada uno de ellos forma un lóbulo en la glándula adulta que funciona como una unidad independiente. Las glándulas mamarias continúan creciendo proporcionalmente al resto del cuerpo y hasta el momento de la pubertad los conductos se encuentran a una distancia corta del pezón (Goldschmidt et al., 2011). En la pubertad los cambios en la mama se producen como consecuencia de la liberación de estrógenos desde los ovarios. Con el inicio de la gestación y el aumento de los niveles de progesterona el crecimiento tiene lugar por un alargamiento y una ramificación del sistema ductal de los lóbulos.

El diagnóstico apropiado y el tratamiento temprano de lo TMC son factores cruciales para aumentar la supervivencia del animal. En la actualidad en las perras que viven en ámbitos urbanos, los propietarios al acariciar en el abdomen a sus mascotas o el propio veterinario en revisiones rutinarias o visitas por otros motivos, detectan de manera precoz la presencia de tumores de mama. En ocasiones éstos cuentan con unos pocos milímetros de tamaño, lo cual como veremos más adelante mejora el pronóstico de los mismos. Es frecuente también, por el contrario, que perras que viven en ámbitos rurales cuyo contacto con sus propietarios es escaso posean tumores de un mayor tamaño en comparación con las anteriores. En muchos de esos casos no los ven a simple vista hasta que poseen un tamaño considerable lo que empeora el pronóstico y dificulta también la extirpación quirúrgica.

La **etiología** de estos tumores es **multifactorial**, siendo los principales factores de riesgo la edad y la exposición a hormonas (endógenas y exógenas). Entre otros factores se incluyen la raza, la dieta, la obesidad en los primeros años de vida y factores genéticos (mutaciones genéticas: gen p53, BRCA1) (Peña L et al., 2011).

1. Edad.

La edad constituye uno de los **factores de riesgo más importantes** en el desarrollo de los tumores mamarios caninos. Se han estudiado en diferentes grupos de poblaciones las edades de aparición de forma natural de los tumores mamarios coincidiendo que tienen lugar entre los 8 y 11 años. También se debe tener en cuenta la esperanza de vida de cada especie. (Roszel et al., 1983; Holmberg L et al., 1993; Pérez Alenza et al., 2000). Por ejemplo, en un estudio realizado en una población de perras de raza Beagle se observó que el riesgo comenzaba a los 8 años de edad y aumentaba a partir de entonces (McFarland et al., 1976).

Los animales jóvenes tienen una incidencia mayor de tumores benignos que los animales de más edad. Este hecho viene respaldado por diferentes artículos publicados pero el más reciente (Goldschmidt et al., 2009) apunta que los animales con una edad media de 8.5 años muestran tumores benignos, mientras que los que tienen entorno a 9.5 son malignos. Los TMC son raros en hembras por debajo de los 5 años de edad salvo aquellos que han sido tratados con hormonas exógenas como progestágenos.

2. Hormonales (esteroides sexuales).

La exposición a hormonas endógenas en edades tempranas es una causa importante en el desarrollo de tumores mamarios en los perros, sobre todo durante los dos primeros ciclos. Los TMC poseen receptores de estrógenos, progestágenos y andrógenos en el tejido tumoral. Los niveles de dichas hormonas tanto en plasma como en el tejido mamario tumoral son

significativamente más altos en los tumores malignos que en los benignos y displasias (Peña et al., 2011).

La esterilización temprana, supone un efecto protector frente a los TMC: antes del primer celo reduce el riesgo al 0,05%, si se realiza entre el primer y segundo celo esta cifra aumenta al 8% y después de los dos años al 26% (Schneider et al., 1969; Sorenmo et al., 2000). No se demuestra una mayor relación entre la esterilización antes del primer celo y el desarrollo de incontinencia urinaria. Este riesgo es mayor en ovariectomías (OHE)/ ovariectomías practicadas en perras menores de 3 meses de edad, por lo que se recomienda la esterilización de hembras mayores de 3 meses y menores de 1 año. (“Guía de actuación en los tumores mamarios caninos”. GEVONC. AVEPA, 2012).

Por otro lado, la esterilización a edades adultas, (cuando el tumor aparece clínicamente) no parece tener valor preventivo frente al cáncer de mama, aunque sí previene la aparición de tumores benignos así como patologías uterinas y ováricas (hiperplasia endometrial quística, piometras, hemometras, mucometras, hidrómetras, tumores ováricos) (Morris et al., 1998; Lana et al., 2007). Otros factores reproductivos como la irregularidad en los ciclos, pseudogestaciones, gestaciones o edad del primer parto no se ha podido comprobar que influyan de manera significativa en el riesgo de padecer este tipo de tumores (Brodey et al., 1966; Schneider et al., 1969; Taylor et al., 1976; Lana et al., 2007).

3. Tratamiento con estrógenos y progestágenos exógenos

El tratamiento con estrógenos y progestágenos exógenos (especialmente el acetato de medroxiprogesterona) es utilizado con el fin de evitar el celo, tratar pseudogestaciones o como abortivos. La utilización rutinaria de estos productos no es recomendable pues aumentan el riesgo de aparición de TMC (Stovring et al., 1997). Existen estudios que respaldan, que perros tratados con progestágenos desarrollan antes tumores y con más frecuencia benignos que malignos. En cambio, en aquellos animales tratados combinando estrógenos y progestágenos sintéticos, desarrollan más malignos (Connanon et al., 1981; Giles et al., 1978; Selman et al., 1995).

4. Raza.

Los TMC pueden aparecer en cualquier hembra de cualquier raza, aunque las razas miniatura y enanas (toy) y algunas razas grandes puras aparecen con más frecuencia en los estudios epidemiológicos. Sin embargo estos datos varían mucho dependiendo del lugar donde se realizan. Un ejemplo son las hembras de raza Bóxer que en artículos procedentes de Estados Unidos no aparecen como razas que frecuentemente padezcan tumores de mama (Brodey et al., 1983; Priester et al., 1971), a diferencia de los artículos Europeos en los que su aparición es cada vez más frecuente (Moe, 2001; Bronden et al., 2010).

Las razas que más frecuentemente aparecen en los listados son: Springer Spaniel inglés, Cocker Spaniel, Setter inglés, Pointer, Pastor Alsaciano, Pastor alemán, Caniche, Bichón maltés, Chihuahua, Beagle y terriers en general (Gregory KO, Moore AS. Manejo del paciente oncológico (guía práctica para la atención compasiva). vol 2.p. 675- 687).

5. Obesidad.

En un amplio estudio realizado (Sonnenschein et al., 1991) en el que se investigaba la asociación entre la dieta, la conformación corporal y el riesgo a desarrollar tumores de mama, se encontró un descenso significativo a desarrollar estos tumores cuando los perros estaban delgados entre los 9 y 12 meses de edad. Asimismo, la ingesta de una dieta rica en grasas y la obesidad en el año previo al diagnóstico de TM, no tuvieron influencias sobre su desarrollo.

Otro estudio destacó que la obesidad en el primer año de edad casi triplicaba la incidencia de tumores mamarios en perras enteras. (Pérez Alenza et al., 1998.). En este informe, las perras con mayor ingesta de carnes rojas también tuvieron un riesgo más alto para desarrollar neoplasia mamaria.

6. Factores genéticos, como mutaciones en el gen p53, BRCA1. (Yuzbasiyan-Gurkan et al., 1999; Muto et al., 2000).

El **abordaje diagnóstico** comienza con incluir la reseña del animal (sexo, raza, edad y estado reproductivo), su historia clínica completa incluyendo un examen físico general exhaustivo (realizando la palpación de todas las mamas y los ganglios superficiales craneales y caudales en busca de alguna alteración en su tamaño, temperatura y/o consistencia), valoración de la condición corporal y una anamnesis profunda que incluya su estado de desparasitación, vacunación, chequeos de enfermedades (como leishmaniosis y filariosis), si padece enfermedades crónicas, o si recibe tratamientos o no. Además, la realización de un análisis sanguíneo completo, incluyendo hematología y bioquímica, es una herramienta fundamental en la valoración del estado de salud general de nuestros pacientes.

El estado general de las perras con tumores mamarios suele ser bueno, salvo que existan enfermedades concurrentes, ya que inicialmente, el 60% de los tumores son displasias o tumores benignos. Con el tiempo esta cifra inicial se modifica ya que si los TMC no se extirpan, pueden transformarse en malignos y ocasionar otros síntomas, bien por metástasis local (invasión local, cojeras, dolor), por metástasis a distancia (tos, intolerancia al ejercicio, fatiga, anorexia) o por síndromes paraneoplásicos (hipercalcemia, hipoglucemia).

Otros datos importantes a incluir en la historia clínica son los relativos a la neoplasia. La fecha de aparición de los tumores y el ritmo de crecimiento son de gran importancia ya que los tumores benignos y las displasias crecen lentamente y pueden incluso cambiar ligeramente de tamaño con el celo, mientras que los malignos crecen rápidamente. En ocasiones comienzan con un crecimiento lento que se acelera súbitamente debido a que se trata de tumores inicialmente benignos que se malignizan. Pueden existir uno o varios nódulos y pueden verse afectadas una glándula mamaria o más, pudiendo ser de distintos tipos histológicos y grado histológico de malignidad.

Además debe incluirse la localización y, es fundamental anotar su tamaño utilizando un calibre así como las características macroscópicas que presentan. Debe indicarse si están sueltos o adheridos a la piel o a planos musculares y si se encuentran ulcerados o no. Características tales como un

crecimiento rápido de los tumores, su fijación a la piel, límites mal definidos y ulceraciones están asociadas a malignidad de los mismos. Por otro lado, los tumores benignos suelen ser pequeños, bien delimitados, móviles y firmes a la palpación.

La exploración de los ganglios regionales debe realizarse para completar la exploración del paciente. Los tumores localizados en las dos primeras glándulas mamarias suelen metastatizar en los ganglios axilares del mismo lado de la localización del tumor. Los situados en las dos últimos pares de mamas lo suelen hacer en los ganglios inguinales. El drenaje linfático de las terceras mamas puede ser tanto craneal como caudal. Cuando los ganglios presentan metástasis están aumentados de tamaño o tienen consistencia más dura. En estos casos el método más eficaz para evaluar y confirmar la existencia de metástasis es realizar una o varias *citologías* mediante la técnica de punción con aguja fina (Rollón y Martín de Mulas, 2004; Simon et al., 2009). Resulta muy útil para diferenciar una infiltración neoplásica o un ganglio reactivo a la necrosis tumoral o a una infección de las mamas.

El uso de la técnica citológica en los tumores de mama es limitada (Withrow and MacEwen's Animal Clinical Oncology. Ed Saunders Elsevier: 619 – 634, 2007), debido a que los tumores son muy heterogéneos contienen diferentes áreas de inflamación y necrosis, siendo necesarias cuatro muestras citológicas de cada tumor para poder establecer su naturaleza e incluso en ese caso el resultado puede no ser orientativo. Sin embargo resulta útil para diferenciar los tumores de otras lesiones como mastitis, granulomas, lipomas, mastocitomas o confirmar una sospecha de carcinoma inflamatorio.

El diagnóstico definitivo se obtiene siempre tras el examen anatomopatológico de las biopsias obtenidas, pudiendo ser una excepción el carcinoma inflamatorio.

Antes de iniciar el tratamiento es preciso establecer el *estadio clínico* del paciente para definir la extensión del proceso tumoral. En dicho estadiaje se evalúa el tamaño del tumor (representado por una **T**), la

afectación de los ganglios regionales (representado por una **N**) y la existencia de metástasis a distancia (representado por una **M**). El sistema más empleado es el *sistema TMN modificado* (Modificado de Owen LN: Classification in domestic animals, Geneva, 1980, World Health Organization).

La **M** se determina realizando radiografías de tórax en las 3 proyecciones: LLD, LLI, VD o DV). Resulta muy interesante y de gran ayuda, aunque no obligatorio, realizar ecografía de abdomen. Siempre está indicada si se confirma la presencia de metástasis en tórax y si se sospecha de neoplasia maligna en las mamas inguinales. Los lugares más frecuentes de metástasis a distancia son los pulmones, ganglios intratorácicos, nódulos linfáticos sublumbar, hígado y bazo (Lana et al., 2007).

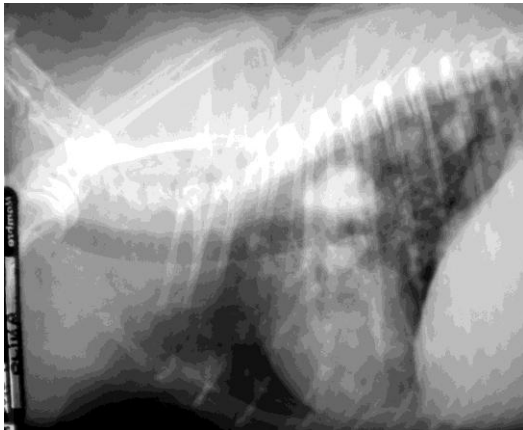


Figura 1. Vista LLI de tórax: patrón intersticial nodular compatible con metástasis.



Figura 2. Imagen ecográfica que revela la presencia de una masa sólida hipoeoica en bazo de 1,3cm que provoca distensión capsular.

Con todos los datos anteriores conocidos se establece el estadio clínico. N1 y M1 están relacionados con peor pronóstico (“Guía de actuación en los tumores mamarios caninos”. GEVONC. AVEPA, 2012).

- **T**, tumor primario. La T la proporciona el diámetro mayor de cada masa, de forma que a mayor T peor pronóstico.

T	Perro >10 Kg	Perro <10Kg
T1	< 3cm	< 2 cm
T2	3– 5 cm	2– 3 cm
T3	> 5 cm	>3 cm

- **N**, estado de los nódulos linfáticos regionales.

N	
N0	No metástasis citológicas o histológicas
N1	Metástasis citológicas o histológicas

- **M**, metástasis a distancia.

M	
M0	Sin metástasis detectables
M1	Metástasis detectables

- Los estadios clínicos son cinco que se resumen a continuación en la siguiente tabla.

Estadio I	T1	N0	M0
Estadio II	T2	N0	M0
Estadio III	T3	N0	M0
Estadio IV	Cualquier T	N1	M0
Estadio V	Cualquier T	Cualquier N	M1

El carcinoma inflamatorio se incluye dentro del estadio clínico III.

El **tratamiento** de elección de los TMC es **quirúrgico** y se establece en función de la historia y el estadio clínico (extensión de la enfermedad), la edad y el estado general del animal (existencia de otras enfermedades concurrentes).

La cirugía supone el tratamiento más efectivo y resulta curativa en perras con displasias y tumores benignos y en aquellas con tumores malignos en estadio de bajo grado. Cuando no es curativa, mejora la calidad de vida y aumenta la supervivencia. La edad de la perra no debe ser un impedimento para realizar la cirugía (exceptuando que haya otra enfermedad concomitante grave o el riesgo anestésico sea alto) ya que la malignidad de los TMC aumentan con la edad. En las mujeres ocurre al contrario, exceptuando el carcinoma inflamatorio que es más frecuente en mujeres jóvenes.

El único caso en el que no está recomendada la cirugía es en el **Carcinoma inflamatorio (CI)**. Se trata de un tipo diferente al resto de neoplasias mamarias por ello merece ser tratado de manera independiente.

El término carcinoma inflamatorio hace referencia a la presentación clínica del tumor pudiendo corresponderse con distintos tipos histológicos de elevada malignidad caracterizada por una masiva invasión tumoral de los vasos linfáticos de la dermis. Se caracteriza por su rápido crecimiento, afectación de múltiples glándulas mamarias parte de una cadena o de las dos o afectadas las dos completamente que se encuentran enrojecidas, calientes, endurecidas, dolorosas, edematosas y eritematosas. Las hembras se encuentran clínicamente enfermas a diferencia del resto de tumores de mama en las que su estado general es bueno. Es muy agresivo, de rápida evolución (1–3 semanas) y la supervivencia es muy baja (1–2 meses de media). Puede mejorar la calidad de vida y la supervivencia la administración de tratamientos antiinflamatorios anticox2, como piroxicam (Feldene R) o firocoxib (Previcox R) debido a sus propiedades antiproliferativas (anticox2) y de quimioterapia neoadyuvante (mitoxantrona, doxorubicina o carboplatino). (Peña et al., 2011).

Clínicamente se puede confundir con una mamitis o dermatitis, de ahí su nombre, aunque no se trata de un proceso inflamatorio. Las mamitis aparecen después del estro, gestación o pseudogestación.

Las características de este tipo de tumor son similares a las que se presentan en la mujer. Este hecho permite que sea un buen modelo de cáncer a estudiar de manera comparada.

Su diagnóstico es clínico por la aparición brusca de los signos anteriormente descritos y se puede confirmar la sospecha mediante citología cuando se observan células epiteliales con atipias manifiestas de la zona cutánea afectada (Pérez Alenza et al., 2001; Peña et al., 2003).

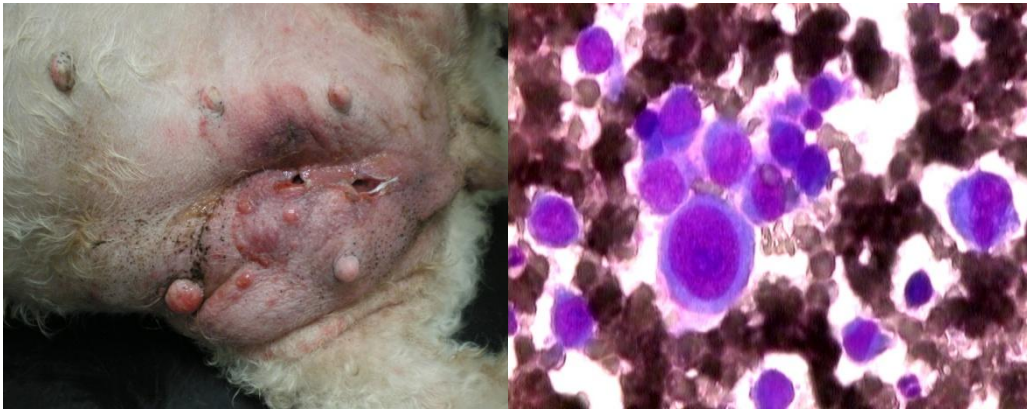


Figura 3. Carcinoma inflamatorio de mama.

Figura 4. Imagen citológica positiva compatible con CI de mama

Existen varias **técnicas quirúrgicas** y su elección dependerá del tamaño y localización de los tumores (uno o más de uno) y de si existe afectación ganglionar o no y, como ya hemos comentado del estado general del animal. Estas técnicas son:

- **Nodulectomía:** escisión del nódulo sin eliminar la glándula completa. Se recomienda realizarla cuando hay un único nódulo menor de 5 mm, no adherido, bien encapsulado y en la periferia de la glándula.
- **Mastectomía simple o local:** escisión del tumor y de la glándula afectada. Está indicada esta cirugía cuando el tumor está cerca del pezón, es una lesión única y de tamaño intermedio (0,5–3 cm).
- **Mastectomía regional o parcial:** consiste en la extirpación de la glándula afectada y de las mamas localizadas en la línea de drenaje linfático; mamas 1,2 y 3 o mamas 4 y 5. Está indicada cuando los tumores son grandes (3-5 cm), adheridos y/o cuando existen varios tumores en dichas mamas. Cuando los tumores se sitúan en la tercera mama, éstas pueden drenar hacia el ganglio axilar y al inguinal por lo que hay autores que recomiendan la extirpación de la cadena completa (mastectomía completa).
- **Mastectomía completa o total:** está indicada cuando los tumores son de gran tamaño (mayores o iguales a 5 cm), ulcerados, adheridos a piel y/o fascias o cuando hay varios tumores en toda la cadena independientemente del tamaño de los tumores. En el caso de que existan tumores en ambas cadenas se comenzará con la extirpación de la cadena completa de un lado y una vez cicatrizada completamente se procederá a la extirpación de la cadena contralateral (aproximadamente transcurre un mes y medio de tiempo entre ambas cirugías). (Lana et al., 2007).

Este mismo año ha sido formado un Grupo de Especialistas Veterinarios en Oncología (**GEVONC**) pertenecientes a la asociación Veterinaria de Especialistas en Pequeños Animales (AVEPA) que han publicado una guía de actuación en los tumores de mama caninos (no aplicable al carcinoma inflamatorio) que incluye tanto indicaciones como recomendaciones.

El **GEVONC**, en las recomendaciones que propone, incluye una tabla en la que según el estadio clínico del paciente se recomienda un tipo de cirugía u otra. El cuadro es el siguiente:

ESTADÍO CLÍNICO	CIRUGÍA
I con tumores <1cm en su T mayor	Nodulectomía
I con tumores >1cm en su T mayor	Mastectomía local
II	Mastectomía local o regional
III	Mastectomía parcial (1 a 3 ó 4 a 5)/ completa*
IV	Mastectomía completa **
V	Valorar cirugía paliativa

**Cuando existen características clínicas de malignidad: adherencia, mala delimitación, infiltración, ulceración, crecimiento rápido...*

***Aunque existe controversia al respecto y son necesarios más exhaustivos, GEVONC recomienda cirugías radicales en estadios IV siguiendo los principios de la cirugía oncológica general'*

Notas:

- a. Siempre se elegirá la cirugía menos agresiva para el paciente que permita unos **márgenes quirúrgicos** adecuados (**al menos 2 cm**).*

- b. Cuando hay nódulos en varias mamas, se deben extirpar todos (mastectomías regional o completa). Aunque los tumores sean potencialmente benignos por sus características clínicas (pequeño tamaño, crecimiento lento...) siempre está indicada la cirugía puesto que con el tiempo tienden a malignizar. (Sorenmo et al., 2009).*

- c. El **60%** de las perras operadas de TMC desarrollan nuevos tumores en la cadena mamaria ipsilateral después de una mastectomía regional. (Stratmann et al., 2008).*

Cuando se realiza una mastectomía, ya sea, simple, regional o completa, de las glándulas mamarias caudales, se extirpan también los nódulos linfoides inguinales superficiales. Estos nódulos se encuentran anatómicamente asociados a la quinta glándula mamaria. Es recomendable que dicho nódulo linfoide sea evaluado histológicamente en busca de posibles metástasis en los mismos.

El **conocimiento del tipo histológico** tras la escisión quirúrgica de la neoplasia y el **grado de malignidad** en el caso de las neoplasias malignas, es fundamental para ajustar el tratamiento posterior a cada paciente y establecer el pronóstico. Los distintos tipos histológicos tienen diferente evolución (Misdorp W et al., 1999) (Tabla 1 en el anexo). Dada la complejidad de la clasificación histológica y debido a la repercusión en el pronóstico, es conveniente utilizar el sistema de gradación histológica adaptado del sistema humano para el cáncer mamario. (Peña et al., 2012).

Entre los tumores benignos el tumor mixto benigno es el más frecuente (posee proliferación epitelial y mioepitelial además de metaplasias cartilaginosas) y entre los tumores malignos destaca el carcinoma sólido (Ettinger y Fledman, 2011). En general los tipos histológicos complejos son menos agresivos biológicamente. Es posible la malignización de tumores mamarios benignos, por lo que si no se extirpan pueden evolucionar a tipos histológicos malignos. Recientemente la **clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS)**, ha sido revisada y actualizada (Goldschmidt et al., 2011) incluyéndose nuevos tipos histológicos, renombrando algunos ya existentes y estableciendo criterios de malignidad específicos para los tumores mamarios malignos (tabla 2 en el anexo).

En general se considera que la mitad de los tumores analizados son benignos y la otra mitad malignos, aunque en la práctica clínica diaria parece ser que los malignos son más frecuentes (Ettinger y Fledman, 2011). En las perras con neoplasias mamarias, en el resto de mamas (sin nódulo macroscópico) de manera frecuente existen displasias, por ello se producen neoplasias en ellas en pacientes en las que sólo se realizan nodulectomías y no mastectomías.

El estudio anatómo-patológico de las muestras mamarias (biopsias) aporta el ***diagnóstico definitivo***. Se deben enviar a un Servicio de Anatomía Patológica, todos los nódulos extirpados, correctamente identificados, así como los márgenes quirúrgicos para que el informe aporte información sobre los mismos indicando si existe invasión o no, así como conocer si existe invasión de los vasos linfáticos regionales. Es importante precisar la descripción de las características histológicas de cada mama de manera individual. Junto a estos datos es muy útil incluir el ***grado de malignidad*** de los tumores malignos epiteliales (no existe un sistema de gradación para los sarcomas mamarios). Existen tres grados de malignidad creciente I, II, III, basados en el estudio de tres características histológicas como son la formación de túbulos, pleomorfismo nuclear e índice de proliferación (tabla 3 en el anexo).

El grado de malignidad está relacionado con el pronóstico y permite discriminar los tumores malignos que evolucionen de manera “verdaderamente maligna”(a mayor grado de malignidad peor pronóstico).En caso de que nos encontremos frente a diferentes tipos y grados histológicos el de mayor malignidad es el que emitirá el pronóstico. En líneas generales (a excepción del carcinoma inflamatorio) los sarcomas tienen peor pronóstico que los carcinomas.

A continuación se expone un cuadro que resume los factores pronósticos de los TMC. (Withrow and MacEwen's Animal Clinical Oncology. Ed Saunders Elsevier: 619 – 634, 2007).

<i>Buen pronóstico</i>	<i>Mal pronóstico</i>	<i>Indiferente</i>
<3 cm de diámetro	>3 cm de diámetro	Edad
Bien delimitado	Invasivo, ulcerado	Raza (razas pequeñas suelen tener más tumores benignos) (Itoh et al.,2005)
Ganglios regionales negativos	Ganglios regionales positivos	Estado reproductor en el momento de la cirugía
Receptores a estrógenos y progesterona :+	Receptores a estrógenos: -	Peso
Tipo histológico (carcinoma-bien diferenciado, complejo, tubular, papilar)	Tipo histológico (carcinoma- poco diferenciado, simple, sólido, anaplásico, carcinoma inflamatorio, sarcomas)	Tipo de cirugía, simple o radical
Tumor grado I	Tumor grado III	Número de tumores
Índice de proliferación bajo de: AGNOR (argylophilic nucleolar organizer region), Ki-67, PCNA (proliferating cell nuclear antigen)	Índice de proliferación alto de: AGNOR (argylophilic nucleolar organizer region), Ki-67, PCNA (proliferating cell nuclear antigen).Mutaciones genéticas del gen p53 y ADN aneptoide	

El empleo de **quimioterapia** se sugiere en tumores de elevada malignidad (GHM III) o en estadios clínicos III y IV, como adyuvante postquirúrgico después de la cirugía, así como en estadio clínico V (existencia de metástasis a distancia).

Existen diversos protocolos quimioterápicos a utilizar. Debe utilizarse el más apropiado en cada caso que el oncólogo considere ya que no existe un consenso ni referencias suficientes que establezcan que protocolo es el más adecuado. El GEVONC propone estos 5 protocolos que detallo a continuación:

- 5-fluoracilo (150mg/m² IV 1 vez a la semana /4 dosis) + ciclofosfamida (100mg/m² IV o PO 1 vez a la semana/4 dosis)
- Mitoxantrona (5mg/m² IV cada 3 semanas de 3 a 5 dosis) + AINE's (preferentemente un coxib)
- Gemcitabina (800mg/m²/semana IV 4 dosis)
- Doxorubicina (30 mg/m² IV/ 3 semanas 4-5 dosis)
- Terapia metronómica oral en casos de estadio V empleando fármaco anticox2/24h + quimioterápico oral (ciclofosfamida 15 mg/m²/24h o clorambucilo 4mg/m²/24h)

La quimioterapia en TMC puede emplearse de distintas formas:

- Terapia neoadyuvante, previa a la cirugía en aquellos animales con afectación local avanzada.
- Terapia adyuvante posquirúrgica, utilizada en animales sin metástasis a distancia pero con un pronóstico clínico e histológico malo con el fin de tratar la enfermedad micrometastática.
- Cuando existan metástasis a distancia.
- Terapia metronómica, que consiste en la administración de quimioterapia permanente (días alternos) a bajas dosis es eficaz para reducir el crecimiento tumoral mediante la inhibición de la angiogénesis. Este tipo de terapia resulta útil en perras con tumores mamarios en estadios clínicos III y V (ciclofosfamida a dosis de 12,5-25 mg/m²/24h PO o clorambucilo a dosis de 6-8 mg/m²/48h PO). (Leach et al., 2011).

También es importante en la elección del protocolo, la comodidad con el uso de los distintos fármacos del propio veterinario así como disponer de medidas de protección adecuadas (campana de extracción, guantes estériles, bata, gafas, mascarilla, sistema Phaseal) por su potencial teratogénico, carcinogénico o irritante. También se deberá depositar el material empleado en contenedores específicos para residuos citotóxicos. Asimismo en los pacientes durante el tratamiento y al menos 48 h después de finalizar el tratamiento, tanto las heces como la orina deberán ser manipuladas con precaución y se deberán eliminar diluidas en gran cantidad de agua. Existen determinados citotóxicos que requieren alargar dicho período de precaución para el manejo de las excretas tras la quimioterapia. Precisamente en dicha lista aparecen la ciclofosfamida (permanece 3 días en orina y 5 en heces tras fin de tratamiento), la doxorubicina (permanecen 6 días en orina y 7 en heces) y la mitoxantrona (6 días en orina y 7 en heces). Es importante que el clínico lo conozca e informe a los propietarios tanto en cómo realizar una correcta manipulación de los fármacos quimioterápicos en casa como en la manipulación de orina y heces de sus mascotas (especialmente si convive con personas inmunodeprimidos y mujeres embarazadas). (Prevención de riesgos laborales, departamento de salud, consumo y servicios sociales de la Diputación general de Aragón).



Figura 5. Campana de extracción del Hospital Veterinario de Zaragoza

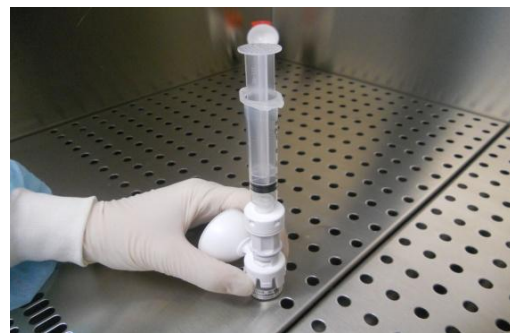


Figura 6. Sistema Phaseal (comercializado en España por Grifols)



Figura 7. Guantes de exploración, gafas protectoras y mascarilla



Figura 8. Contenedor de residuos citotóxicos del Hospital Veterinario de Zaragoza.

Además de la quimioterapia existen otras alternativas terapéuticas como la **radioterapia**, desgraciadamente no disponible todavía en nuestro país; el tamoxifeno (con efecto antiestrógenicos) en desuso. También el medicamento aglepristone (Alizine R), antirreceptor de progesterona, en perras enteras en fase lútea parece disminuir el tamaño de algunos tumores de mama antes de la extirpación quirúrgica, por lo que resulta útil antes de la cirugía en estos casos (De Andrés et al., 2006).

El seguimiento de nuestros pacientes es fundamental para el mantenimiento de su calidad de vida, especialmente en los casos de tumores con características clínicas de malignidad o tumores malignos en un tumor benigno: revisiones cada 6 meses durante 2 años; y los casos de tumores malignos deberá revisarse cada 3 meses durante 2 años. En dichas revisiones se incluirán exploraciones físicas completas, analíticas sanguíneas, radiografías de tórax y ecografías de abdomen. (Guía de actuación en los tumores mamarios caninos. Sección A: indicaciones). En caso de que los propietarios no acudan a las revisiones propuestas es aconsejable, en la medida de lo posible, contactar telefónicamente con ellos para interesarnos por su salud.

3.- Objetivos del trabajo

La elevada incidencia de los TMC hace necesario establecer tratamientos individualizados multidisciplinares a cada paciente dependiendo del tipo histológico que presente. Ello conlleva trabajar estrechamente con el Servicio de Anatomía Patológica de manera continuada.

La preocupación creciente del bienestar de las mascotas por parte de los propietarios y la empatía que se muestra hacia esta patología junto con la obligación de prestar un servicio veterinario de calidad, hacen merecedoras las neoplasias de mama de ser objeto del presente trabajo.

En el presente trabajo se presenta ***un análisis de los casos recibidos en el Hospital Veterinario de Zaragoza*** de todos los pacientes que padecen TMC, desde octubre de 2011 hasta junio de 2012 con el fin de ampliar el conocimiento sobre este tipo de tumores. Para ello es necesaria la creación de una ficha clínica para cada paciente e incluirlas en la base de datos informática creada especialmente para este fin. De esta forma se pretende conocer el número de casos recibidos en nuestro Hospital y las características que presentan los TMC.

Otro de los objetivos que se pretenden es el establecimiento de las bases para la creación de un ***Banco de tumores*** mamarios procedente de muestras de pequeños animales (cánidos y félicos). Esta meta es un pilar fundamental del grupo de investigación de la Diputación General de Aragón de ***“Oncología Comparada”*** en el que participo como becaria y es dirigido por el Dr. Marcelo de las Heras, Catedrático de Anatomía Patológica de nuestra Facultad. Se persigue la creación de un protocolo normalizado de trabajo (PNT) para la toma de muestras y almacenamiento de los tumores de mama caninos y felinos, que permita que el trabajo desarrollado sea reproducible y garantice la continuidad del mismo, así como la creación de una ficha donde se recojan datos del estudio histopatológico de dichas muestras y se emita el diagnóstico definitivo. Además se pretende iniciar la colección de muestras en dicho Banco de tumores a partir de los casos procedentes de nuestro Hospital.

5.- Metodología

Para lograr cumplir con los objetivos planteados se tratarán a continuación los recursos utilizados en cada uno de ellos de manera independiente.

5.1.- Análisis de los casos recibidos en el Hospital Veterinario de Zaragoza de todos los pacientes que padecen TMC, desde octubre de 2011 hasta junio de 2012.

5.1.1.- Selección de los animales para el estudio.

Ante la llegada de manera aleatoria de cada paciente que padecía nódulos, en una o varias mamas, o en una o en ambas cadenas al Hospital Veterinario, concretamente al Servicio de Oncología, se inicia un protocolo diagnóstico encaminado a valorar si efectivamente ese paciente es susceptible de realizarle un tratamiento quirúrgico. Durante este curso fueron tratadas además, 3 perras diagnosticadas de carcinoma inflamatorio que fueron excluidos del estudio por no estar indicada la cirugía en este tipo de tumores, como hemos comentado anteriormente. Asimismo, se diagnosticaron otros 6 casos, de los cuales 3 no fueron TMC y otros 3, no se operaron por decisión de los propietarios.

Los animales seleccionados fueron un total de **25 perras**, siendo en todos los casos su primera visita al Hospital por la aparición de tumores mamarios.

5.1.2.- Protocolo diagnóstico y cumplimentación de la ficha clínica en la consulta de oncología.

Se reúnen datos de forma sistemática para cada uno de los pacientes:

- Número de historia en el Hospital, la fecha de la consulta, la especie, la raza, nombre, fecha de nacimiento (edad) y el sexo del animal.
- Examen físico general y valoración de la condición corporal.
- Historial previo de neoplasias.
- Historial reproductivo, en el que se incluye si han recibido tratamientos hormonales, el número de ciclos anteriores por año, partos y edad de la primera camada, si está esterilizada o no, si ha sufrido pseudogestaciones o si se han detectado previamente lesiones en ovarios o en útero.
- Examen físico de la/s neoplasia/s reuniendo datos acerca de su localización y tamaño, si se encuentra adherido a piel o fascias, la presencia de lesión cutánea o ulceración y el tiempo de crecimiento.
- Exploración de los linfonodos axilares e inguinales.
- Radiografías de tórax, en busca de la presencia de metástasis torácicas.
- Ecografía de abdomen, para detectar posibles lesiones en ovarios y útero así como descartar la presencia de metástasis abdominales (ganglios mesentéricos, bazo, hígado).
- Citología de mama y/o de linfonodos axilares e inguinales.
- Determinar el estadio clínico del paciente según el sistema TMN, a partir de los datos reunidos anteriormente.


Este protocolo se lleva a cabo en consulta de Oncología trabajando conjuntamente con los servicios de Radiología y Ecografía.

Con los datos reunidos se procede a remitir el caso a la consulta de cirugía en la que el cirujano reevalúa al paciente poniendo especial atención en los tumores mamarios. Para evitar la variabilidad las intervenciones fueron realizadas según el mismo procedimiento quirúrgico y asignadas a un cirujano responsable. El procedimiento quirúrgico utilizado fue la Mastectomía unilateral completa o total para poder valorar todas las glándulas mamarias histológicamente al mismo tiempo y así poder apreciar los cambios que en ellas se producen tanto en las neoplásicas como en las que macroscópicamente no se aprecian nódulos. La mayoría de los TMC (75%) pueden ser curados con la cirugía como tratamiento único (Ettinger y Feldman, 2011).

En el caso de que se presentaran tumores en ambas cadenas, se programaba primero la cirugía de la cadena con tumores de mayor tamaño y al cabo de un mes y medio, aproximadamente, tras la cicatrización completa de la primera cadena y conocer el/los tipo/s histológicos, se programa una segunda cirugía para la extirpación de la cadena contralateral. La valoración preanestésica antes de cada cirugía es fundamental, en la que se incluyen entre otros la analítica sanguínea completa (hematología y bioquímica), en el caso de que en consulta no se haya considerado realizarla.

Como se puede observar, se trata de una patología en la que es primordial el abordaje multidisciplinar y la relación estrecha entre diferentes especialistas.

A continuación se muestra la ficha clínica elaborada específicamente para su uso en la consulta.

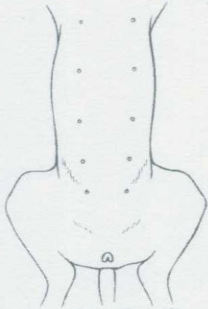
 **Hospital Veterinario**
Universidad Zaragoza

Consulta de Oncología
Tumores de mama

Historia nº:	Fecha:	Especie:	
Raza:	Nombre:	Fecha nacimiento:	Sexo:

Examen físico general/ condición corporal
Historial previo de neoplasias
Historial reproductivo:
Tratamientos hormonales (tipo, duración)
Nº ciclos anteriores (nº celos /año)
Partos
Edad 1ª camada
OHT
Piometra
Pseudogestaciones
Lesiones ovario/útero

Examen físico de la neoplasia:
Localización y tamaño
Adherencia a piel o fascias
Presencia de lesión cutánea o ulceración
Tiempo de crecimiento



Exploración linfonodos axilares e inguinales:
Radiografías de tórax:
Ecografía de abdomen:
Estadio clínico:
Citología

Miguel Servet 177
50013 Zaragoza (España)
976-761-833 • hcv@unizar.es

unizar.es

5.1.3.- Creación de la base de datos.

Resulta imprescindible contar para este estudio con una correcta herramienta informática. En este caso fue diseñada una base de datos por el profesor Ignacio de Blas Giral, para poder introducir la información recogida de cada paciente a partir de su ficha clínica y añadir, además, otros datos tales como el tipo histológico resultante de la biopsia y a que glándula mamaria correspondía, el tratamiento quimioterápico recibido (adyuvante, metronómica adyuvante, metronómica postadyuvante con la fecha de inicio y fin del mismo) y datos del seguimiento del paciente (fecha último control sano, fecha de la recaída y fecha de su muerte).

La base de datos en la que se recogió dicha información fue *Microsoft Access 2003* la cual recibió el nombre de **“Base de datos de tumores mamarios en pequeños animales”**. En ella se incluyó una tabla principal con la información de cada individuo, y dos tablas vinculadas donde se recogieron los datos correspondientes a cada uno de los nódulos detectados en cada individuo y a cada uno de los tratamientos administrados. Para la facilitar la introducción de estos datos se diseñó además un formulario, que a su vez incluía dos subformularios uno para los nódulos y otro para los tratamientos.

Aunque fue creada para ser utilizada en perras y gatas, como durante el tiempo de recogida de casos únicamente tuvimos 1 caso de gata afectada por tumores mamarios, decidimos centrarnos en la especie canina para el presente trabajo. Esta herramienta de trabajo ha sido incorporada en la consulta de oncología para su uso en ambas especies de manera rutinaria.

A continuación se adjunta una *captura de la pantalla* en la que aparecen los distintos formularios anteriormente descritos. Fueron cumplimentados para cada uno de los 25 casos clínicos registrados.

Base de datos de tumores mamarios en pequeños animales Nº de historial

Datos del animal

Nombre Fecha de nacimiento Condición corporal:

Especie Aptitud

Raza Residencia

Datos reproductivos

Nº de ciclos estrales previos ¿Ha presentado alguna lesión en ovario o útero?

Presentación de celos En caso afirmativo, indicar cuáles

Nº de partos ¿Se le han administrado tratamientos hormonales?

Edad al primer parto (años) En caso afirmativo, indicar cuáles

¿Ha padecido alguna vez piometra?

¿Ha experimentado pseudogestaciones? ¿Se le ha practicado una ovariectomía (OHT)?

En caso afirmativo, indicar edad (años) a la que se realizó la OHT

Nódulos Nº de Historial

Fecha diagnóstico del tumor

Localización Ulceración Tiempo de crecimiento

Tamaño Adherencias Tipo histológico

Registro: 1 de 1 Sin filtro Buscar

Tratamientos Nº historial

Estadio clínico Linfonodo inguinal Linfonodo axilar Metástasis

Fecha cirugía Mama/nódulo extirpado

	Fecha inicio	Fecha fin
Quimioterapia adyuvante <input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Quimioterapia metronómica adyuvante <input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Quimioterapia metronómica postadyuvante <input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>

Fecha último control (sano) Fecha recaída Fecha muerte

Registro: 27 de 27 Sin filtro Buscar

Observaciones

Registro: 27 de 27 Sin filtro Buscar

5.2.3.- Protocolo normalizado de trabajo (PNT).

Para la realización de la ficha que aúna como realizar la toma de muestras y el almacenamiento de los tumores en el Banco, nos basamos en el protocolo empleado en el “Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas”, concretamente al descrito en los “Servicios de Apoyo al sistema Nacional De Salud, Banco de tumores” (www.cnio.es). Siguiendo dicho modelo empleado para la especie humana, ha sido establecido un protocolo similar para los pequeños animales. Dicho protocolo consta de 5 apartados bien diferenciados en los que se describen las características del método empleado.

- *Traslado del tejido desde los quirófanos hasta el Servicio de Anatomía Patológica.*

Cuando la escisión de la cadena mamaria completa ha sido realizada, se introduce la misma envuelta en papel (el papel empleado ha sido el que protege a los guantes estériles) en una bolsita de plástico transparente sin líquido alguno en su interior. Dicha bolsa se coloca sobre placas de refrigerante congelado en el interior de un contenedor de transporte cerrándola correctamente. Esta actividad se realiza en el quirófano. El personal encargado debe ir con indumentaria apropiada, en este caso debe hacer uso de una bata y guantes de exploración hasta finalizar la actividad. A continuación, dicho contenedor es transportado desde el Hospital Veterinario hasta el Servicio de Anatomía Patológica. Se realiza la anotación del tiempo de salida del quirófano.



Figura 9. *Contenedor refrigerante (de color azul), máquina identificadora y caja para almacenar las muestras.*

- *Examen de la biopsia y selección de la pieza quirúrgica en el Servicio de Anatomía patológica.*

Una vez en el laboratorio de la unidad y con la campana de bioseguridad conectada, procedemos a la extracción de la muestra de la bolsa y la colocamos sobre una superficie destinada para ello para proceder a su tallado. Antes de iniciarlo anotamos el tiempo de inicio del procesado de la muestra.

Comenzamos la exploración y palpación de cada una de las mamas comprobando las características de cada mama con la ayuda del esquema cumplimentado en la ficha clínica en la consulta de Oncología. Se obtendrán muestras de todas las mamas con tejido neoplásico y muestras de tejido no neoplásico procedente de mamas distintas a las neoplásicas. En algunos casos se obtuvieron un número de muestras mayor que en otras ya que depende de las características concretas de cada caso. Para ello necesitamos el siguiente material: unas pinzas y unas hojas de bisturí.

Se recomienda la obtención de 4 fragmentos tanto del tejido neoplásico como del no neoplásico. 2 fragmentos irán destinadas a su congelación para formar parte del Banco y las otras 2 para su conservación en parafina de cada uno de los tipos de tejido. Se debe anotar a que cadena mamaria pertenecen (derecha o izquierda) y a que glándula mamaria de la misma (T1, T2, A1, A2, inguinal) en ambos casos.

Una vez seleccionadas y talladas se anota el tiempo del fin del procesado de la muestra.

- *Congelación.*

El tejido neoplásico y el no neoplásico se distribuye en fragmentos con un tamaño no superior a 1,5 x 1 x 0,5 cm y se introducirán en criomoldes estándar (Cryomold Standard, Tissue – Tek 4557) previamente relleno con OTC- Compound y se dispone para congelar. Se congela en 2-metil – indol previamente enfriado con nitrógeno líquido hasta conseguir densidad pastosa (gel). Cuando la pieza cambie de color al blanco se termina de congelar directamente sumergido en el nitrógeno líquido.

Las muestras irán identificadas con el número de historial utilizado en el Hospital Veterinario de Zaragoza con una etiqueta de poliuretano hecha con la máquina (LabPal, Brady. Cintas PAL 500 461). Las muestras tumorales en las etiquetas muestran una cuña cortada con tijeras, mientras que las procedentes de mamas normales no.

- *Fijación en formol neutro tamponado.*

Las piezas de tejido seleccionadas se colocarán en un casete de color blanco e identificado con el número de historial utilizado en el Hospital Veterinario de Zaragoza, para ser fijado en formol tamponado al 10% durante 48h e incluido en parafina según procedimiento rutinario. El resto de la biopsia quirúrgica se fijará en formol neutro tamponado para su examen histopatológico. Se debe de tener la precaución de reservar una muestra de tumor para este análisis. Es importante emitir un informe lo antes posible ya que tiene mucha importancia su diagnóstico tanto para el clínico como para el propietario del animal.

Para realizar el examen histológico se diseñó una plantilla para rellenar en cada caso. Dicha plantilla se denomina “**Ficha de observación histopatológica. Banco de neoplasias de mama**”. La citada ficha contiene un primer formulario a cumplimentar acerca del animal: historia clínica, número de biopsia asignada, la fecha de la observación, la especie animal (canina o felina), el sexo, la raza y la edad. A continuación se procede a realizar la descripción histológica de

cada una de las glándulas mamarias indicando a que cadena pertenecen (derecha o izquierda) y a su localización en ella (T1, T2, A1, A2 e inguinal). Asimismo se deben describir los linfonodos inguinales superficiales y las características de los bordes quirúrgicos. Cada una de las mamas es clasificada según la clasificación histopatológica de la Organización Mundial de la Salud (Misdorp et al., 1999) y se realiza también su gradación histológica (tabla 3 en anexo). La ficha de observación histopatológica diseñada se adjunta a continuación.

FICHA DE OBSERVACION HISTOPATOLOGICA BANCO NEOPLASIAS MAMA

Nº Historia:	B- /	Fecha:	
Especie: Can / Fel	Sexo:	Raza:	Edad:

1.-Descripción histológica por glándula mamaria.

Localización	Descripción	Nº Mamas: :
CMD/CMI		
Lc Axillaris		
Toracica 1		
Toracica 2		
Abdominal 1		
Abdominal 2		
Inguinal		
Lnn inguinalis superficiales propii		
Bordes quirúrgicos		

2.-Clasificación histopatológica (Misdorp et al., 1999).

Localización	T1	T2	A1	A2	Inguinal
CMD/CMI					

Comentarios:

GRADACIÓN HISTOLÓGICA DE NEOPLASIAS DE MAMA

Localización	CMD	Mamas normales	
	CMI	Mamas neoplásicas	

Aspecto histológico	Gradación	Componente celular EPITELIAL	Componente celular CONJUNTIVO
1. Formación de túbulos.	1. Bien marcados		
	2. Moderado		
	3. Escaso/nulo		
2. Figuras mitóticas/n. hiperromático	1. Ocasional		
	2. 2-3 por campo		
	3. > de 3 x campo		
3. Pleomorfismo tamaño, forma, tinción núcleos.	1. Uniforme		
	2. Moderado		
	3. Marcado		
Total			
Calificación	Grado 0 (1-3)		

	Grado I (3-5)			
	Grado II (6-7)			
	Grado III (8-9)			
4. Tipo de sustancia intercelular	Fibrosis	Baja		
		Moderada		
		Alta		
	Mixoide	Baja		
		Moderada		
		Alta		
5. Inflamación.	Intra-tumor	0-1		
		2		
		3		
	Peri-tumor	0-1		
		2		
		3		
6. Capsulación.	De 0 a 3			
7. Tipo de crecimiento.	Infiltrante			
	Expansivo			
8. Invasión vascular local.	Sanguíneo			
	Linfático			
9. Invasión nódulos linfoides regionales	Lc Axillare			
	Lnn inguinalis superficiales propii			
Comentarios				

Fecha:

Firma:

- *Conservación del tejido.*

Las muestras congeladas se conservan en un congelador situado en el Hospital veterinario de Zaragoza a -80°C dentro de una caja de plástico NALGENE 5050-001 (Nalge Nunc Storage Box, Polycarbonate).



Figura 10 . Congelador del Hospital Veterinario.

Las muestras conservadas en parafina se guardan el lugar destinado para ello, en el Servicio de Anatomía patológica.

Cada protocolo deberá ir con la fecha y la firma del ejecutor del proceso.

La ficha generada para el PNT que reúne las características descritas anteriormente es la que se adjunta a continuación.

PNT: TOMA DE MUESTRAS Y ALMACENAMIENTO DE NEOPLASIAS DE MAMA EN PERRAS Y GATAS.

NºHistoria:	B- /	Fecha:
Especie: Can / Fel	CMD / CMI	Nº Mamas:

1.- Traslado del tejido desde los quirófanos hasta el Servicio de Anatomía Patológica.

- Obtención de la pieza quirúrgica introduciendo la muestra en una bolsa de plástico sin líquido alguno envuelto en papel, introducido en un contenedor de transporte con placas de refrigerante congelado.
- Medir tiempo de traslado desde el quirófano hasta el procesado de la muestra.

T' Salida de quirófano =

2.- Examen de la biopsia y selección de la pieza quirúrgica.

T" Inicio procesado de la muestra =

T" Fin procesado de la muestra=

2.1.- Selección de tejido neoplásico.

Recomendación: obtención de 4 fragmentos de 1,5 x 1,5 x 0,4 cm. (2 para congelación + 2 para su conservación en parafina).

Dependiendo del tamaño del tumor el número de fragmentos podrán reducirse a 2. (1 para congelación + 1 para su conservación en parafina).

CMD / CMI	T1	T2	A1	A2	Inguinal
-----------	----	----	----	----	----------

2.2.- Selección de tejido NO neoplásico.

Seleccionar 4 fragmentos de tejido mamario normal (2 para congelación + 2 para su conservación en parafina) localizado en mamas distintas a las neoplásicas, indicando las mamas de las que procede la muestra.

CMD / CMI	T1	T2	A1	A2	Inguinal
-----------	----	----	----	----	----------

3.- Congelación.

- El tejido neoplásico y el NO neoplásico se distribuirá en fragmentos con un tamaño no superior a 1,5 x 1 x 0,5 cm y se introducirán en criomoldes estándar (Cryomold Standard, Tissue – Tek 4557) previamente rellenado con OCT – Compound. Una vez colocada la pieza se rellena y se cubre con OCT- Compound y se dispone para congelar. Se congela en 2 – metil - indol previamente enfriado con nitrógeno líquido hasta conseguir densidad pastosa (gel). Cuando la pieza cambie de color al blanco se termina de congelar directamente el nitrógeno líquido.

- Las muestras irán identificadas con el número de historial utilizado en el Hospital Clínico Veterinario de Zaragoza en etiqueta de poliuretano hecha con la máquina (LabPal, Brady. Cintas PAL 500 461).

- Las muestras tumorales en las etiquetas mostraran una cuña recortada con tijeras, mientras que las procedentes de mamas normales no.

4.- Fijación en formol neutro tamponado.

Las piezas seleccionadas se colocaran en un casete de color blanco e identificado con el número de historial utilizado en el Hospital Clínico Veterinario de Zaragoza, para ser fijado en formol tamponado al 10% durante 48h e incluido en parafina según procedimiento rutinario. El resto de la biopsia quirúrgica se fijará en formol neutro tamponado para su examen histopatológico. Se tendrá cuidado de reservar una muestra de tumor para este tipo de análisis.

5.- Conservación del tejido.

Las muestras congeladas se conservan en un congelador situado en el Hospital Clínico Veterinario de Zaragoza a -60°C dentro de una caja de plástico NALGENE 5050-001 (Nalge Nunc Storage Box, Polycarbonate).

Las muestras conservadas en parafina se guardarán en lugar destinado para ello.

Fecha:

Firma:

Cada hembra sometida al procedimiento quirúrgico posee su correspondiente protocolo cumplimentado. Poseerán uno o dos PNT dependiendo de si han sido sometidas hasta el momento a una o dos cirugías. Este procedimiento ha requerido un entrenamiento largo en su ejecución y perfeccionamiento de la técnica hasta lograr la máxima excelencia del mismo. Debido a ello fue necesario multitud de intentos hasta decidir aprobar su uso rutinario, lo que provocó que diversas muestras de tejidos se desecharan para su conservación en el Banco aunque su diagnóstico histológico fue emitido normalmente para cada paciente. Las secciones en parafina se conservan en el archivo de la unidad de Anatomía Patológica (tanto las que forman parte del Banco, como las que no) y los bloques, de mamas tumorales y mamas normales en el archivo del Banco también en dicha unidad.

En la actualidad se encuentran conservadas **10 muestras** procedentes de 4 hembras distintas.

El Banco de tumores de nuestra Facultad es el único en España, aunque todavía se encuentre en vías de crecimiento. La financiación para ello procede del grupo de investigación de Oncología Comparada de la Diputación General de Aragón. Se encuentra en vías de creación además una plataforma informática de acceso para otros profesionales para poder solicitar muestras y poder realizar estudios multicéntricos futuros. En dicha plataforma además se pretende volcar los datos almacenados de los casos en Medicina humana del Hospital Miguel Servet de Zaragoza con el que trabajamos. De esta forma se pretende crear, además de la Red de Bancos de Tumores (RBT) promovida y coordinada por el CNIO, una red informática común en medicina humana y veterinaria con protocolos homogéneos de recogida, procesamiento y almacenamiento de muestras. Ello supondría una herramienta para promocionar la investigación oncológica

Todo ello todavía se encuentra en proceso de creación en la actualidad.

6.- Resultados y discusión.

6.1.- Análisis de los casos recibidos en el Hospital Veterinario de Zaragoza de todos los pacientes que padecen TMC, desde octubre de 2011 hasta junio de 2012.

En el Hospital Veterinario de nuestra Facultad, durante el curso académico 2011/2012, se han recogido **26** casos clínicos de tumores de mama, de los cuales **25** han sido **perras** y **1 gata**. Debido a la poca casuística en gatas, como hemos comentado anteriormente, hemos centrado el estudio únicamente en la especie canina.

A continuación se presentan los resultados estadísticos obtenidos a partir de nuestra base de datos empleada (**Microsoft Access 2003**): **“Base de datos de tumores mamarios en pequeños animales”**.

De los 25 casos que hemos atendido con este tipo de neoplasia en la especie canina, un 96% proceden de zona urbana, y un 4% de zona rural.

La distribución de las distintas razas de las perras del estudio, se muestra en la siguiente tabla, entre las que predominan las perras mestizas y de raza Cocker Spaniel Inglés.

Razas	% de Presentación
Mestizo	32%
Cocker Spaniel Inglés	24%
Yorkshire	16%
Bulldog Francés	4%
Bulldog Inglés	4%
Bichón maltés	4%
Labrador	4%
Spaniel Bretón	4%
Caniche	4%
Bóxer	4%

Un 92% tienen una condición corporal de 3 (escala de 1 a 5, 1= muy delgado y 5=obeso), y un 8% una condición corporal de 4, observando el buen cuidado de los animales con cierta tendencia a la semiobesidad. No se ha atendido ningún caso con condición corporal 1,2 o 5.

La edad media de aparición de TMC en nuestros pacientes es de 10 años, variando en un rango desde los 4 años a los 15. Estos resultados son coincidentes con la bibliografía consultada.

De la información recogida acerca de los datos reproductivos se extrae que a la mayoría de las perras atendidas no se les ha administrado tratamientos hormonales (84%), no han padecido piometra ó infección uterina (84%), no han sufrido pseudogestaciones (72%), u otras lesiones en el aparato reproductor (72%).

A continuación se enumeran los indicadores de salud estudiados y se correlaciona el uso de tratamientos hormonales con la frecuencia de padecer alteraciones reproductivas.

Tabla x. Indicadores de salud reproductiva de las hembras estudiadas

Indicador	Frecuencia
Tratamientos hormonales	16%
Ovariohisterectomía	44%
Piometra	16%
Pseudogestación	28%
Lesiones reproductivas	28%

Tablas y. Asociación de los tratamientos hormonales con la frecuencia de alteraciones reproductivas

	Con tratamiento hormonal (n=4)	Sin tratamiento hormonal (n=21)	p*
Piometra	0,0%	19,0%	>0,999
Pseudogestación	25,0%	28,6%	>0,999
Lesiones reproductivas	25,0%	28,6%	>0,999

* Significación según la prueba de razón de verosimilitudes

De dicha correlación se extrae que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos (con tratamiento hormonal, sin tratamiento hormonal).

Asimismo se correlacionó el estado de esterilización de nuestras pacientes (44%) con el padecimiento de piometra, pseudogestaciones y otras alteraciones reproductivas. De este análisis se concluyó la esterilización sí es un parámetro estadísticamente significativo en relación a padecer piometras u otras lesiones en el aparato reproductor, aunque no con las pseudogestaciones. En nuestro estudio hemos observado que a pesar de que el 44% estaban esterilizadas han padecido tumores de mama. Ello nos llevó a intentar averiguar las razones de por qué sucedía esto, ya que el efecto protector de la esterilización a edades tempranas es un hecho probado. Resultó que (11 perras) habían sido esterilizadas por piometra (5), mucometra (1), hiperprasia endometrial quística (1), todas ellas a edades adultas (después del segundo celo). Las 4 restantes se esterilizaron el mismo día de la cirugía de la cadena mamaria, también todas ellas eran de edad avanzada. Por tanto, a pesar de estar esterilizadas no estaban protegidas frente a TMC malignos, únicamente frente a benignos.

Se ha observado además, que los animales que han padecido piometra, los cuales han sido esterilizados todos como hemos visto, han tardado más tiempo en desarrollar tumores de mama. La diferencia de edad entre ellos es de 10 a 12 años. Aunque este resultado no es estadísticamente significativo, esta tendencia es apreciada, hecho que se podría concretar al ampliar la muestra en estudios posteriores

El número de ciclos estrales al año que hemos considerado normal son 2 (conscientes de que existen variaciones entre las distintas razas). Un 72% de nuestros animales del estudio tienen este número normal de ciclos por año, un 24% tienen menos de 2 ciclos por año y un 4% poseen más de 2 ciclos por año. Se realizó para comprobar su regularidad del ciclo.

Entre los pacientes del estudio sólo 3 han parido alguna vez, siendo la edad media de 3 años, y de un único parto por animal. Por lo tanto en cuanto a la relación de la gestación con los TMC no podemos sacar ninguna conclusión por la baja casuística.

Observamos los siguientes porcentajes de aparición de nodulaciones en cada una de las 5 mamas por cadena. La R representa la cadena mamaria derecha y la L a la izquierda. Existieron casos de más de un nódulo por mama.

R1	8,5%	L1	5,7%
R2	13,2%	L2	7,5%
R3	14,2%	L3	5,7%
R4	11,3%	L4	13,2%
R5	10,4%	L5	10,4%

Observamos mayor porcentaje de tumores (65,1%) en las mamas posteriores (de la 3 a la 5), respecto a los observados (34,9%) en las mamas anteriores (1 y 2). Este resultado es coincidente con la bibliografía. También se aprecia un mayor porcentaje en la cadena derecha (58%) que en la izquierda (42%). Este último resultado para ser valorado necesita ampliar el número de la muestra y constatar así o no, si esta tendencia se mantiene.

Poniendo atención en el tamaño de los nódulos vemos un mayor porcentaje en nódulos de menos de 0,5 cm (34,9%) y entre 0,5 y 3 cm (34%). Asimismo tenemos porcentajes muy bajos de ulceración en nódulos y adherencias a piel o fascias de éstos. Ello está directamente relacionado con la detección precoz de los tumores y con el buen pronóstico de los mismos ya que como hemos visto a mayor tamaño del tumor, peor pronóstico (Lana et al., 2007).

En cuanto al tiempo de crecimiento de los TMC, un alto porcentaje está sin determinar ya que los dueños de los animales no recordaban con exactitud la fecha en la que los detectaron por primera vez (48,1%). De los que si obtuvimos datos, predominan animales con tiempos de crecimiento de más de 6 meses (26,4%).

Centrándonos en el análisis de los tipos histológicos resultantes de los nódulos mamaros observados, resulta un 86% de tumores benignos entre los cuales predominan adenoma simple tubulopapilar, el adenoma

complejo y el tumor mixto benigno. Mientras que un 14% son malignos, entre los predominan el carcinoma sólido y el carcinoma complejo. Los 2 tipos histológicos más frecuentes son el tumor mixto benigno y el carcinoma sólido, así que nuestros resultados son coincidentes con las publicaciones. La bibliografía refleja que aproximadamente un 50% de los casos son benignos y otro 50% malignos. En nuestro caso los tipos histológicos benignos son mucho más frecuentes. Sospechamos que es debido a un alto porcentaje de tumores detectados son de pequeño tamaño.

Observamos además, una tendencia de mayor porcentaje de tumores benignos que malignos en las mamas anteriores, pero no es estadísticamente significativo.

De todas las glándulas mamarias sin nodulaciones estudiadas, el 42% presentaba cambios en su estructura sin considerarse malignos. Los cambios más frecuentes son la existencia de conductos glandulares con más de 2-3 capas de células epiteliales cúbicas o prismáticas con una morfología uniforme, pequeñas regiones de adenosis y en general un tejido mamario más activado de lo normal. Con el fin de comprobar si estos cambios están relacionados con el ciclo estral, encontramos un trabajo recientemente publicado (Chandra et al., 2010) en el que se relacionan dichos cambios morfológicos durante el ciclo en perras de la raza Beagle (tabla 4 en anexo). En cada una de las fases (anestro, proestro, estro y diestro) muestran los hallazgos histológicos más relevantes.

Los miembros del estudio tardaron de media 3 semanas desde el diagnóstico de la neoplasia hasta la cirugía, aunque hubo algunas que se operaron en la misma semana y otras que tardaron hasta 21 semanas, por decisión de sus dueños.

Ninguna de las perras atendidas mostraron los linfonodos regionales afectados, ni el axilar, ni el inguinal. Únicamente una de ellas presentó metástasis a distancia (en tórax) detectada mediante radiografías y otra tenía metástasis en la región abdominal, vista mediante el uso de técnica ecográfica.

Los porcentajes de los estadios clínicos de los tumores de mama que presentaban nuestros casos fueron: un 73% se encontraban en estadio

clínico I, mientras que un 4% son de estadio II y IV, y un 19% de estadio III. Ello que nos indica mayor porcentaje de pronóstico más favorable, en relación directa con el tamaño del tumor (T).

Mediante el uso de la técnica citológica en la consulta hemos evitado la extirpación en tres hembras de sus cadenas mamarias, ya que las nodulaciones que presentaban se correspondían con lipomas. En la mayor parte de citologías realizadas se encontraban abundantes criterios de malignidad pero no era posible determinar el origen celular de las mismas o poseían un abundante fondo hemático.

No se han podido obtener información acerca de la eficacia de los distintos tratamientos empleados mediante el estudio de intervalos libres de enfermedad o libres de recaída (tiempo de supervivencia libre de enfermedad que supone el “tiempo de progresión de la enfermedad local a sistémica después de remisión completa con cirugía”) y tiempos de supervivencia total debido a que todas ellas permanecen vivas en la actualidad.

La principal limitación sufrida es que al estar sujetos a la llegada aleatoria de los pacientes al Hospital, era impredecible el número de casos con los que íbamos a contar para el estudio. No hemos tenido dificultades a la hora de recopilar los datos para las fichas clínicas pero si en el análisis de los resultados por el número bajo de casos incluibles en trabajo. Se han desechado casos de pacientes que tras la citología supimos que no eran TMC o confirmamos que eran CI y otros que siendo perfectos candidatos a ser sometidos a cirugía los dueños se opusieron por motivos económicos. Todos ellos suponen un total de 9 casos clínicos.

6.2.- Establecimiento de las bases para la creación de un Banco de tumores mamarios procedente de muestras de pequeños animales (cánidos y félicos).

Ha sido posible cumplir los objetivos previstos en este campo, diseñando con detalle un protocolo de trabajo que resulte comprensible y reproducible por otro investigador garantizando así su continuidad en el tiempo. Incluye como hemos visto una ficha del PNT para cada caso que debe ser correctamente cumplimentado y otra ficha para su estudio histopatológico, reuniendo así dos formularios por cadena mamaria analizada para cada uno de los animales.

Estas bases son utilizables también para la recogida y almacenamiento de tumores mamarios en la especie felina.

Se encuentran disponibles 10 muestras congeladas de TMC correctamente identificadas y diagnosticadas histopatológicamente. Su almacenamiento en el banco no supone un incremento en el gasto para el propietario.

Su utilidad se pondrá de manifiesto cuando pueda servir para realizar estudios multicéntricos o diagnósticos moleculares a otros investigadores a través de la red de Banco de Tumores.

7.- Conclusiones

De los resultados que se han obtenido mediante la realización de este trabajo, pueden extraerse las siguientes conclusiones:

- Según los resultados estadísticos de este estudio, el hallazgo más sobresaliente ha sido que el porcentaje de tumores benignos (86%) observados es superior al de malignos. Este hecho podría deberse a una detección precoz de los mismos y especialmente al pequeño tamaño de la mayoría de ellos en el momento del diagnóstico.
- Recomendamos el uso de la técnica citológica para el trabajo cotidiano, por su bajo coste y mínimo daño para el animal, ya que a pesar de no poder emitir un diagnóstico certero del mismo acerca de la naturaleza del tumor (en el caso de los TMC) antes de biopsiarlo, si podemos diagnosticar otros nódulos de distinta naturaleza evitando así procedimientos quirúrgicos innecesarios para el animal que suponen un importante gasto para el propietario.
- La creación de la base de datos de los tumores mamarios en pequeños animales, permitirá su utilización en los próximos casos que aparezcan, así como realizar un estudio retrospectivo de los mismos en el Hospital Veterinario de Zaragoza. Esta última línea de trabajo la vamos a iniciar este próximo curso. Para obtener datos estadísticos más concluyentes deberá completarse el estudio ampliando el número de casos clínicos.
- El establecimiento de los protocolos a seguir en la formación del Banco de tumores animal resulta un trabajo novedoso en nuestra Facultad. Además de recopilar un mayor número de muestras y completar el diseño de la página web para su puesta en funcionamiento, se plantea la posibilidad de hacerlo extensivo al almacenamiento de otros tipos de neoplasias en el futuro.

7.- Referencias bibliográficas

Brodey RS, Fidler IJ, Howson AE. The relationship of estrus cycle irregularity, pseudo- pregnancy, and pregnancy to the development of canine mammary neoplasms. *J Am Animal Hosp Assoc.* 1966; 149:1047- 1049.

Brodey RS, Goldschmidt MH, Roszel JR. Canine mammary gland neoplasms. *J Am Animal Hosp Assoc.* 1983; 19:61 – 90.

Bronden LB, Nielsen SS, Toft N, Kristensen AT. Data from the Danish veterinary cancer registry on the occurrence and distribution of neoplasms in dogs in Denmark. *Vet Record.* 2010; 166:586 – 590.

Connanon PW, Spraker TR, Casey HW, Hansel W. Gross and histopathologic effects of medroxyprogesterone acetate and progesterone on the mammary gland of adult Beagle bitches. *Fertil Steril.* 1981;36: 373-387.

De Andrés PJ, Jimenez MA, Clemente M, Peña L, Silvan G, Illera JC, Perez Alenza, MD. Effects of Aglepristone administered before surgical treatment in dogs with spontaneous mammary tumors. Proceedings from 16 th ECVIM-CA Congress; 2006 Sep 14-16; Amsterdam, Netherlands.p.179.

Ettinger SJ, Fledman EC. *Textbook of Veterinary Internal Medicine Expert Consult.* 7th Edition. Saunders.2011.

Giles RC, Kwapien RP, Geil RG, Casey HW. Mammary nodules in Beagle dogs administered investigational oral contraceptive steroids. *J Natl Cancer Inst.* 1978;60: 1351- 1364.

Goldschmidt MH et al. Canine mammary gland tumors; a histological continuum from benign to malignant; clinical and histopathological evidence. *Vet Comp Oncol.* 2009; 7:162-172.

Goldschmidt M, Peña L, Rasotto R, Zappulli V. Classification and grading of canine mammary tumors. *Vet Pathol.* 2011 Jan; 48(1):117-31.

Goldschmidt MH, Sorenmo KU, Rasotto R, Zapulli V. Development, Anatomy, Histology, Lymphatic drainage, Clinical Features, and Cell Differentiation Markers of Canine Mammary Gland Neoplasms. *Vet Pathol.* 2011 Jun 25; 48(1):85-97.

Holmberg L, Hellmén E, Bergstrom R, et al. Prognostic factors in canine mammary gland tumors: a multivariate study of 202 consecutive cases. *Vet Pathol.* 1983; 30: 20-27.

Itoh T, Uchida K, Ishikawa K et al. Clinicopathological survey of 101 canine mammary gland tumors: differences between small-breed dogs and others. *J Vet Med Sci.* 2005;67:345-347.

Lana SF, Rutterman GR, Withrow SJ. Tumors of the mammary gland. In: Withrow SJ, Vail DM, editor. *Small Animal Clinical Oncology.* Philadelphia: Saunders Elsevier; 2007. p.619-633.

Leach TN, Childress MO, Greene SN, Mohamed AS, Moore GE, Schrempp DR, Lahrman SR, Knapp DW. Prospective trial of metronomic chlorambucil chemotherapy in dogs with naturally occurring cancer. *JVCO.* 2011 Sept; 1476-5829.

McFarland S et al. Mammary neoplasia in a closed Beagle colony. *Cancer Research.* 1976; 36:2740-2743.

Moe L. Population-based incidence of mammary tumors in some dog breeds. *J Reprod Fertil Suppl.* 2001; 57: 439 – 443.

Morris JS, Dobson JM, Bostock DE et al. Effect of ovariohysterectomy in bitches with mammary neoplasms. *Vet Rec.* 1998;142: 656-658.

Muto T, Wakui S, Takahashi H, et al. P53 Gene mutations occurring in spontaneous benign and malignant mammary tumors of the dog. *Vet Pathol.* 2000; 37:248 – 253.

Peña L, Pérez-Alenza MD. Avances en Oncología. Actualización en el diagnóstico y tratamiento de los tumores mamarios caninos. Argos 132. 2011 Oct.

Peña L, De Andrés PJ, Clemente M, Cuesta P, Pérez-Alenza MD. Prognostic value of histological grading in noninflammatory canine mammary carcinomas in a prospective study with two-year follow-up: relationship with clinical and histological characteristics. Vet Pathol. 2012 Jun 11.

Pérez Alenza MD, Peña L, Rodríguez-Bertos A et al. Canine inflammatory mammary carcinoma: histopathology, immunohistochemistry and clinical implications of 21 cases. Breast Cancer Res Treat. 2003; 78:141-148.

Pérez Alenza MD, Peña L, Del Castillo N, Nieto AI. Factors influencing the incidence and prognosis of canine mammary tumors. Small Anim Pract.2000; 41(7):287-91.

Pérez Alenza MD, Rutteman GR, Peña L, et al. Relationship between habitual diet and canine mammary tumors in a case-control study. J Vet Intern Med. 1998;12: 132 – 139.

Pérez Alenza MD, Tabanera E, Peña L. Inflammatory mammary carcinoma in dogs: 33 cases (1995-1999). J Am Vet Med Assoc. 2001; 219:1110-1114.

Priester WA, Mantel N: Occurrence of tumors in domestic animals. Data from 12 United States and Canadian Colleges of Veterinary Medicine. J Natl Cancer Inst.1971; 47: 1333 – 1344.

Rollón E, Martín de Mulas J. The accuracy of fine-needle aspiration cytology in canine and feline mammary lesions: comparison with histopathological diagnosis. IV EVSSAR Congress. Ora Communication. 2004.

Roszel JR , Brodey RS, Goldschmidt MH. Canine mammary gland neoplasm. *J Am Animal Hosp Assoc.* 1983; 19:61-90.

Schneider R, Dorn CR, Taylor DON. Factors Influencing canine mammary cancer development and postsurgical survival. *J Natl Cancer Inst.* 1969; 43:1249 – 1261.

Selman PJ, van Garderen E, Mol JA, van der Ingh TS. Comparison of the histological changes in the dog after treatment with the progestins medroxyprogesterone acetate and proligestone. *Vet Q.* 1995; 17:128-133.

Simon D, Schoenrock D, Nolte I, Baumgärtner W, Barron R, Mischke R. Cytologic examination of fine-needle aspirates from mammary gland tumors in the dog: diagnostic accuracy with comparison to histopathology and association with postoperative outcome. *Vet Clin Pathol.* 2009 Dec 38; (4):521-8.

Sonnenschein EG, Glickman LT, Goldschmidt MH, Mckee LJ. Bodyconformation, diet, and risk of breast cancer in pet dogs: a case-control study. *Am J Epidemiol.* 1991; 133:694-703.

Sorenmo KU, Kristiansen VM, Cofone M et al. Canine mammary gland tumours; a histological continuum from benign to malignant; clinical and histopathological evidence. *Vet Comp Oncol.* 2009; 7(3):162-72.

Sorenmo KU, Shofer FS, Goldschmidt MH. Effect of spaying and timing of spaying on survival of dogs with mammary carcinoma. *J Vet Intern Med.* 2000;14: 266-270.

Stovring M, Moe L, Glattre. A population based case – controlled study of canine mammary tumors and clinical use of medroxyprogesterone acetate. *APMIS.* 1997; 105 (8):590-6.

Stratmann N, Failing K, Richter A et al. Mammary tumor recurrence in bitches after regional mastectomy. *Vet Surg.* 2008; 37(1):82-6).

Tauler ML, Turrau R. Mammary Gland Surgery. IV EVSSAR congress proceedings; 2004 June; Barcelona .p. 243-246.

Taylor GN, Shabestari L, Williams J, Mays CW, Angus W, Mcfarland S. Mammary neoplasia in a closed Beagle Colony. Cancer Research. 1976 ; 36:2740- 2743

Yuzbasiyan-Gurkan V, Cao Y, Venta P, et al. Loss of heterogenozygosity at the BRCA1 locus in canine mammary carcinoma. Proc Vet Cancer Soc. 1999; 19:7.

Imágenes

- ***Figura 1-*** Cedita por la Profesora Amaya Unzueta Galarza, responsable del Servicio de radiología del Hospital Veterinario de Zaragoza.
- ***Figura 2-*** Cedita por María Borobia Frías, responsable del Servicio de ecografía del Hospital Veterinario de Zaragoza.
- ***Figura 3,4,5,6,7 y 8-*** Ceditas por la Dra. Carmen Aceña Fabián, responsable del Servicio de oncología del Hospital Veterinario de Zaragoza.
- ***Figura 9 y 10-*** Realización propia.

8.- Anexo

1.- Misdorp W et al. *Histological Classification of Mammary Tumors of the Dog and the Cat.* 2nd ed. 1999.

<p style="text-align: center;">Histological Classification of Mammary Tumors of the Dog and the Cat</p> <p style="text-align: center;">CANINE</p> <p>1 Malignant Tumors</p> <ul style="list-style-type: none"> 1.1 Noninfiltrating (in situ) carcinoma 1.2 Complex carcinoma 1.3 Simple carcinoma 1.3.1 Tubulopapillary carcinoma 1.3.2 Solid carcinoma 1.3.3 Anaplastic carcinoma 1.4 Special types of carcinomas <ul style="list-style-type: none"> 1.4.1 Spindle cell carcinoma 1.4.2 Squamous cell carcinoma 1.4.3 Mucinous carcinoma 1.4.4 Lipid-rich carcinoma 1.5 Sarcoma <ul style="list-style-type: none"> 1.5.1 Fibrosarcoma 1.5.2 Osteosarcoma 1.5.3 Other sarcomas 1.6 Carcinosarcoma 1.7 Carcinoma or sarcoma in benign tumor <p>2 Benign Tumors</p> <ul style="list-style-type: none"> 2.1 Adenoma <ul style="list-style-type: none"> 2.1.1 Simple adenoma 2.1.2 Complex adenoma 2.2 Fibroadenoma <ul style="list-style-type: none"> 2.2.1 Low-cellularity fibroadenoma 2.2.2 High-cellularity fibroadenoma 2.3 Benign mixed tumor 2.4 Duct papilloma <p>3 Unclassified Tumors</p> <p>4 Mammary Hyperplasias/Dysplasias</p> <ul style="list-style-type: none"> 4.1 Ductal hyperplasia 4.2 Lobular hyperplasia <ul style="list-style-type: none"> 4.2.1 Epithelial hyperplasia 4.2.2 Adenosis 4.3 Cysts 4.4 Duct ectasia 4.5 Focal fibrosis (fibrosclerosis) 4.6 Gynecomastia 	<p style="text-align: center;">FELINE</p> <p>1 Malignant Tumors</p> <ul style="list-style-type: none"> 1.1 Noninfiltrating (in situ) carcinoma 1.2 Tubulopapillary carcinoma 1.3 Solid carcinoma 1.4 Cribriform carcinoma 1.5 Squamous cell carcinoma 1.6 Mucinous carcinoma 1.7 Carcinosarcoma 1.8 Carcinoma or sarcoma in benign tumor <p>2 Benign Tumors</p> <ul style="list-style-type: none"> 2.1 Adenoma <ul style="list-style-type: none"> 2.1.1 Simple adenoma 2.1.2 Complex adenoma 2.2 Fibroadenoma <ul style="list-style-type: none"> 2.2.1 Low-cellularity fibroadenoma 2.2.2 High-cellularity fibroadenoma 2.3 Benign mixed tumor 2.4 Duct papilloma <p>3 Unclassified Tumors</p> <p>4 Mammary Hyperplasias/Dysplasias</p> <ul style="list-style-type: none"> 4.1 Ductal hyperplasia 4.2 Lobular hyperplasia <ul style="list-style-type: none"> 4.2.1 Epithelial hyperplasia 4.2.2 Adenosis 4.2.3 Fibroadenomatous change (feline mammary hypertrophy, fibroepithelial hypertrophy) 4.3 Cysts 4.4 Duct ectasia 4.5 Focal fibrosis (fibrosclerosis)
--	---

2.- Goldschmidt M, Peña L, Rassotto R, Zapulli V. Classification and Grading of Canine Mammary Tumors. *Vet Pathol.*2011; 48-117.

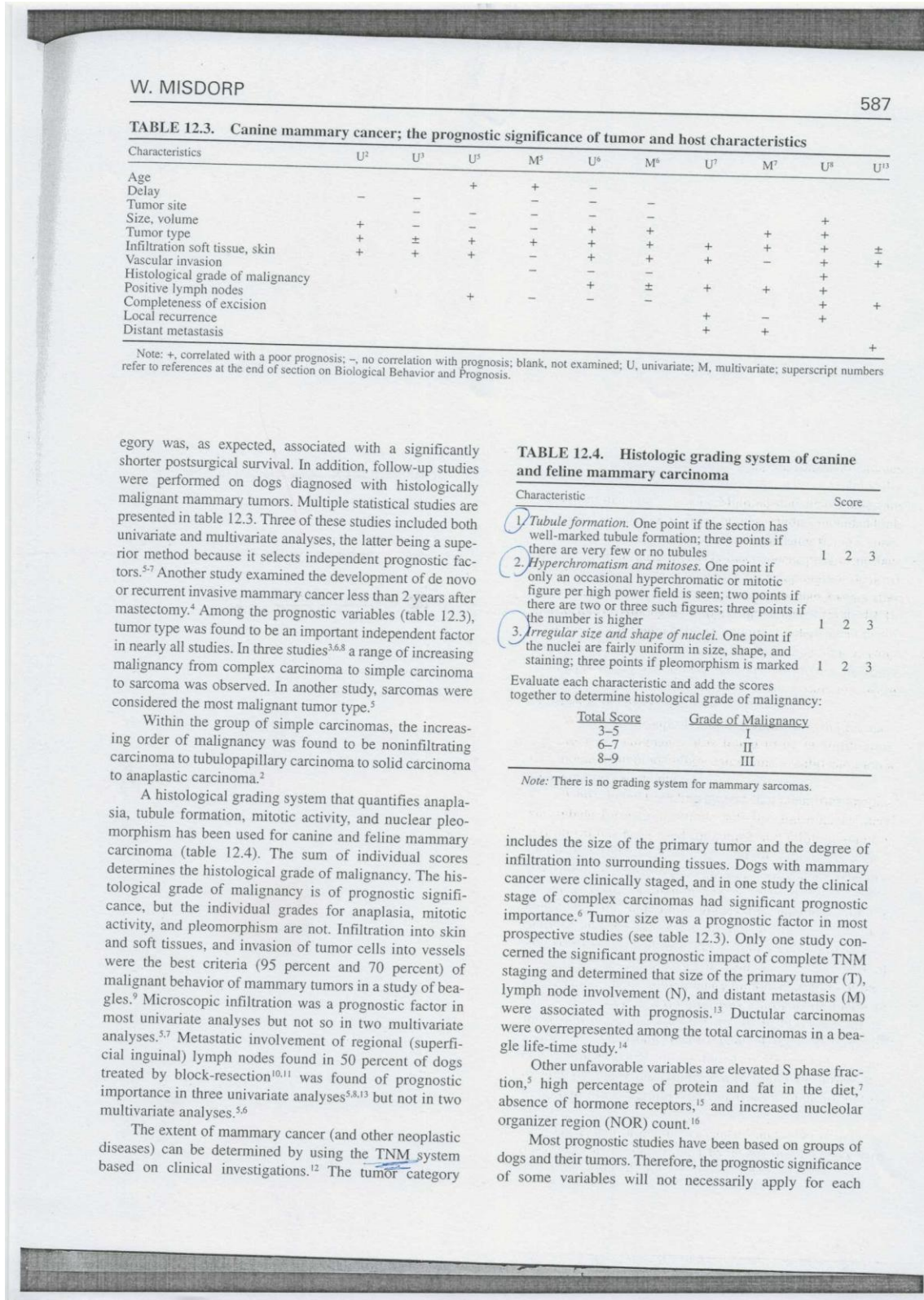
118 Veterinary Pathology 48(1)

Table 1. Histologic Classifications: 1974 and 1999

1974 HISTOLOGIC CLASSIFICATION ⁷	1999 HISTOLOGIC CLASSIFICATION ¹³
I. Carcinoma	I Malignant tumors
A. Adenocarcinoma	1.1 Noninfiltrating (in situ) carcinoma
1. Tubular	1.2 Complex carcinoma
(a) Simple type	1.3 Simple carcinoma
(b) Complex type	1.3.1 Tubulopapillary carcinoma
2. Papillary	1.3.2 Solid carcinoma
(a) simple type	1.3.3 Anaplastic carcinoma
(b) complex type	1.4 Special type of carcinomas
3. Papillary cystic	1.4.1 Spindle cell carcinoma
(a) simple type	1.4.2 Squamous cell carcinoma
(b) complex type	1.4.3 Mucinous carcinoma
B. Solid carcinoma	1.4.4 Lipid-rich carcinoma
(a) simple type	1.5 Sarcoma
(b) complex type	1.5.1 Fibrosarcoma
C. Spindle cell carcinoma	1.5.2 Osteosarcoma
(a) simple type	1.5.3 Other sarcomas
(b) complex type	1.6 Carcinosarcoma
D. Anaplastic carcinoma	1.7 Carcinoma or sarcoma in benign tumor
E. Squamous cell carcinoma	II Benign tumors
F. Mucinous carcinoma	2.1 Adenoma
II. Sarcoma	2.1.1 Simple adenoma
A. Osteosarcoma	2.1.2 Complex adenoma
B. Fibrosarcoma	2.1.3 Basaloid adenoma
C. Combined sarcoma	2.2 Fibroadenoma
D. Other sarcomas	2.2.1 Low-cellularity fibroadenoma
III. Carcinosarcoma (malignant mixed tumor)	2.2.2 High-cellularity fibroadenoma
IV. Benign	2.3 Benign mixed tumor
A. Adenoma	2.4 Duct papilloma
B. Papilloma	III Unclassified Tumors
1. Duct papilloma	IV Mammary hyperplasia and dysplasia
2. Duct papillomatosis	4.1 Ductal hyperplasia
C. Fibroadenoma	4.2 Lobular hyperplasia
1. Pericanalicular	4.2.1 Epithelial hyperplasia
2. Intracanalicular	4.2.2 Adenosis
(a) noncellular type	4.3 Cysts
(b) cellular type	4.4 Duct ectasia
3. Benign mixed tumor	4.5 Focal fibrosis (fibrosclerosis)
4. Total fibroadenomatous change	4.6 Gynecomastia
D. Benign soft tissue tumor	
V. Unclassified Tumors	
VI. Dysplasias	
A. Cyst	
1. Nonpapillary	
2. Papillary	
B. Adenosis	
C. Epitheliosis	
D. Duct ectasia	
E. Fibrosclerosis	
F. Gynecomastia	
G. Other nonneoplastic proliferative lesions	
1. Noninflammatory lobular hyperplasia	
2. Inflammatory lobular hyperplasia	

Downloaded from vps.sagepub.com at American College of Veterinary Pathologists on November 7, 2011

3.- Misdorp W. Tumors of the Mammary Gland. In: Meuten DJ, editor. Tumors in domestic animals. Iowa State University Press; 2002.p.587.



W. MISDORP

587

TABLE 12.3. Canine mammary cancer; the prognostic significance of tumor and host characteristics

Characteristics	U ²	U ³	U ⁵	M ²	U ⁶	M ⁶	U ⁷	M ⁷	U ⁸	U ¹³
Age			+	+	-					
Delay	-	-		-	-	-				
Tumor site										
Size, volume	+	-	-	-	+	+			+	
Tumor type	+	±						+		+
Infiltration soft tissue, skin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±
Vascular invasion			+				+	-	+	+
Histological grade of malignancy										+
Positive lymph nodes					+	±	+	+	+	+
Completeness of excision			+	-	-	-			+	+
Local recurrence							+	-	+	
Distant metastasis							+	+		+

Note: +, correlated with a poor prognosis; -, no correlation with prognosis; blank, not examined; U, univariate; M, multivariate; superscript numbers refer to references at the end of section on Biological Behavior and Prognosis.

egory was, as expected, associated with a significantly shorter postsurgical survival. In addition, follow-up studies were performed on dogs diagnosed with histologically malignant mammary tumors. Multiple statistical studies are presented in table 12.3. Three of these studies included both univariate and multivariate analyses, the latter being a superior method because it selects independent prognostic factors.^{5,7} Another study examined the development of de novo or recurrent invasive mammary cancer less than 2 years after mastectomy.⁴ Among the prognostic variables (table 12.3), tumor type was found to be an important independent factor in nearly all studies. In three studies^{3,6,8} a range of increasing malignancy from complex carcinoma to simple carcinoma to sarcoma was observed. In another study, sarcomas were considered the most malignant tumor type.⁵

Within the group of simple carcinomas, the increasing order of malignancy was found to be noninfiltrating carcinoma to tubulopapillary carcinoma to solid carcinoma to anaplastic carcinoma.²

A histological grading system that quantifies anaplasia, tubule formation, mitotic activity, and nuclear pleomorphism has been used for canine and feline mammary carcinoma (table 12.4). The sum of individual scores determines the histological grade of malignancy. The histological grade of malignancy is of prognostic significance, but the individual grades for anaplasia, mitotic activity, and pleomorphism are not. Infiltration into skin and soft tissues, and invasion of tumor cells into vessels were the best criteria (95 percent and 70 percent) of malignant behavior of mammary tumors in a study of beagles.⁹ Microscopic infiltration was a prognostic factor in most univariate analyses but not so in two multivariate analyses.^{5,7} Metastatic involvement of regional (superficial inguinal) lymph nodes found in 50 percent of dogs treated by block-resection^{10,11} was found of prognostic importance in three univariate analyses^{5,8,13} but not in two multivariate analyses.^{5,6}

The extent of mammary cancer (and other neoplastic diseases) can be determined by using the TNM system based on clinical investigations.¹² The tumor category

TABLE 12.4. Histologic grading system of canine and feline mammary carcinoma

Characteristic	Score
1. Tubule formation. One point if the section has well-marked tubule formation; three points if there are very few or no tubules	1 2 3
2. Hyperchromatism and mitoses. One point if only an occasional hyperchromatic or mitotic figure per high power field is seen; two points if there are two or three such figures; three points if the number is higher	1 2 3
3. Irregular size and shape of nuclei. One point if the nuclei are fairly uniform in size, shape, and staining; three points if pleomorphism is marked	1 2 3

Evaluate each characteristic and add the scores together to determine histological grade of malignancy:

Total Score	Grade of Malignancy
3-5	I
6-7	II
8-9	III

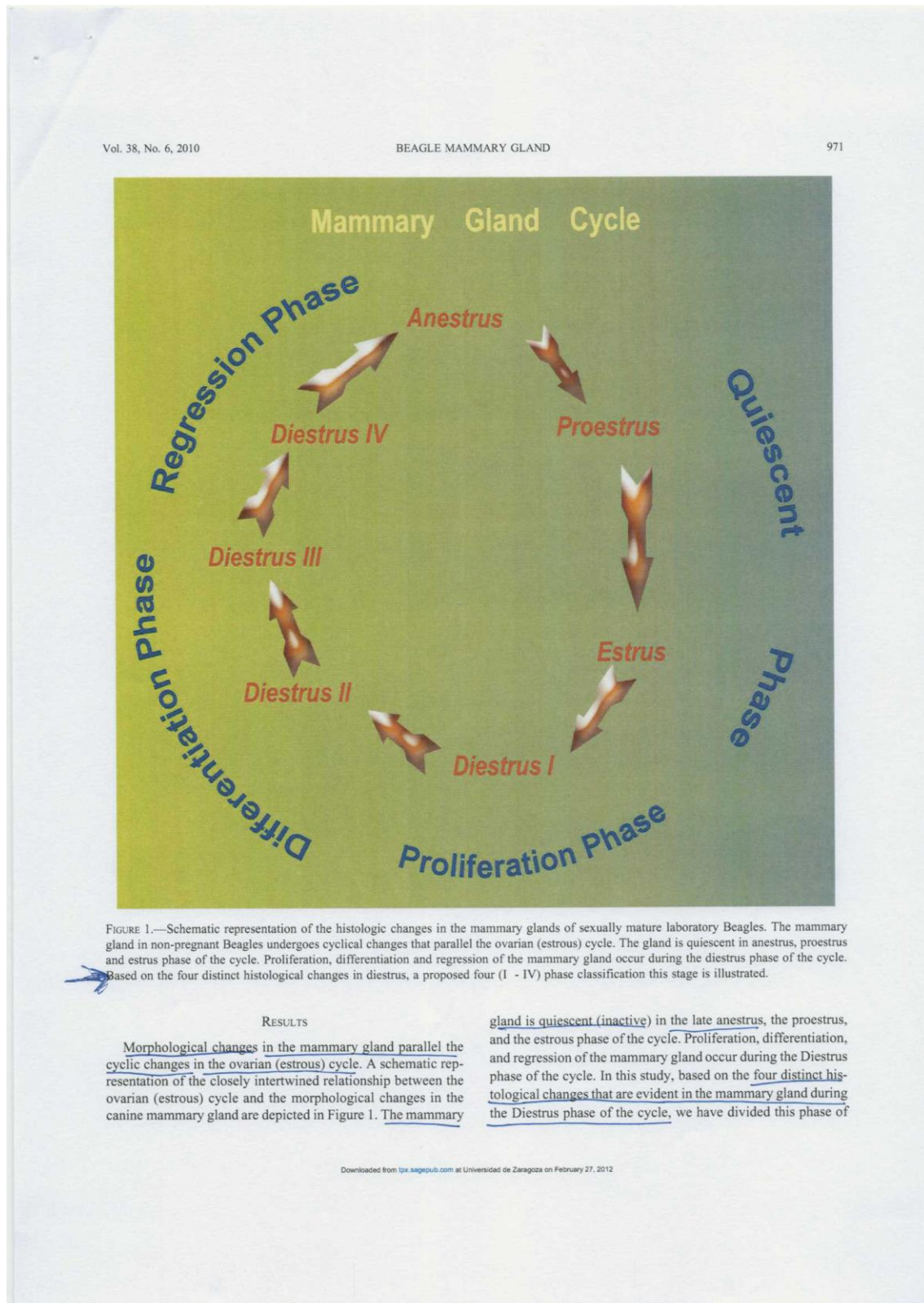
Note: There is no grading system for mammary sarcomas.

includes the size of the primary tumor and the degree of infiltration into surrounding tissues. Dogs with mammary cancer were clinically staged, and in one study the clinical stage of complex carcinomas had significant prognostic importance.⁶ Tumor size was a prognostic factor in most prospective studies (see table 12.3). Only one study concerned the significant prognostic impact of complete TNM staging and determined that size of the primary tumor (T), lymph node involvement (N), and distant metastasis (M) were associated with prognosis.¹³ Ductular carcinomas were overrepresented among the total carcinomas in a beagle life-time study.¹⁴

Other unfavorable variables are elevated S phase fraction,⁵ high percentage of protein and fat in the diet,⁷ absence of hormone receptors,¹⁵ and increased nucleolar organizer region (NOR) count.¹⁶

Most prognostic studies have been based on groups of dogs and their tumors. Therefore, the prognostic significance of some variables will not necessarily apply for each

4.- Chandra SA, Cline JM, Adler RR. Cyclic morphological Changes in the Beagle mammary gland. *Tox Pathol.* 2010; 38: 969-983.



9.- Agradecimientos

Al profesor Ignacio de Blas Giral, por su inestimable ayuda en la creación de la Base de datos de los Tumores mamarios en pequeños animales y a Sara Augusto Satué, becaria de colaboración en oncología este año, con la que hemos compartido esta experiencia.

Especialmente agradecida a la Dra. Carmen Aceña Fabián, al Dr. Marcelo de las Heras Guillamón y al Dr. Jaime Graus Morales, por su incondicional apoyo y su espíritu docente que han hecho posible este trabajo.