



Facultad de Veterinaria  
**Universidad** Zaragoza



# Trabajo Fin de

Autor/es

Director/es

Facultad de Veterinaria

---

## INDICE

1. RESUMEN .....	3
2. INTRODUCCIÓN .....	4
La Oncología veterinaria .....	4
Los tumores de mama caninos (TMC).....	4
La etiología .....	5
El procedimiento diagnóstico.....	7
El establecimiento del estadio clínico .....	8
La elección del tratamiento ideal.....	11
El seguimiento .....	17
3. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS .....	17
4. RECURSOS Y METODOLOGÍA.....	18
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	22
6. CONCLUSIONES .....	26
7. VALORACIÓN PERSONAL .....	27
8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	27
9. AGRADECIMIENTOS.....	30
ANEXOS .....	31

## 1. RESUMEN

Las neoplasias de la glándula mamaria se encuentran entre los tumores de presentación más frecuente en la especie canina. Las tasas de incidencia registradas varían dependiendo del origen de los estudios y las características de dicha población debido a que la práctica de la ovariectomía en edades tempranas reduce drásticamente dicha incidencia.

El presente trabajo aborda los tumores mamarios caninos (TMC) tanto desde un punto de vista clínico como anatomo-patológico. Se describen las características clínicas, la etiología, el procedimiento diagnóstico, la importancia de la obtención de un diagnóstico histológico para determinar el pronóstico así como el tratamiento más adecuado en cada caso. Además de ello, se ha realizado un análisis de los casos clínicos recibidos en el Servicio de Oncología del Hospital Veterinario de la Universidad de Zaragoza durante el curso 2014-2015, además de otros datos retrospectivos, observando un mayor número de casos de tumores benignos que malignos y la existencia de asociación entre el grado de malignidad y la presencia de nódulos en las mamas inguinales. Además se deduce la poca importancia que la mayoría de los propietarios da a este tipo de neoplasias, de ahí nuestra motivación constante con el fin de concienciarles de la relevancia que en verdad tienen.

### STUDY OF CASUISTRY AND EVOLUTION OF BREAST TUMORS IN DOGS AND CATS TREATED AT THE VETERINARY HOSPITAL OF THE UNIVERSITY OF ZARAGOZA

The mammary gland tumors are one of the most common tumors of presentation in dogs. The incidence rates reported vary, depending on the origin of the studies and characteristics of the source population because the practice of performing ovariectomy (OHE) at a young age reduce drastically this incidence.

This work includes canine mammary tumors (TMC) both from a clinical diagnosis as a pathological diagnosis. Clinical features, etiology, diagnosis procedure, the importance of obtaining a histological diagnosis to determine the prognosis and the best treatment in each case have been described. Moreover, an analysis of clinical cases received in the Oncology Service of the Veterinary Hospital of the University of Zaragoza has been done during the 2014-2015 course, and other retrospective data, observing a higher incidence of benign tumors and the association between the degree of malignancy and the presence of nodules in the inguinal breasts. In addition, most owners give little importance to this type of tumors, hence our constant motivation in order to raise awareness of the importance they really have.

## 2. INTRODUCCIÓN

La Oncología veterinaria tiene cada vez mayor importancia debido a la mayor longevidad de los animales de compañía y los mayores lazos afectivos de éstos con sus propietarios. Esto hace que la preocupación por el bienestar de nuestras mascotas vaya en aumento, aportándoles todos los cuidados posibles y, por tanto, esperando una actuación veterinaria de calidad.

Siempre se debe mostrar empatía con el propietario, haciéndole también saber que se hará todo y cuanto esté en nuestra mano por mantener, a lo largo del transcurso de la enfermedad, su calidad de vida, aconsejándole los tratamientos más óptimos tales como la quimioterapia, el tratamiento quirúrgico, tratamientos paliativos o sintomáticos o incluso la eutanasia, e informándole siempre del pronóstico de la enfermedad.

El cáncer es una causa mayor de muerte en los animales, existen estudios que demuestran que hasta el 45% de los perros que viven 10 o más años, mueren de cáncer<sup>16</sup>. El tratamiento del mismo en los animales no siempre ofrece posibilidades de “curación”, sin embargo el veterinario debe conocerlas. Cada vez más, las enfermedades neoplásicas tienen la consideración de una enfermedad crónica más. Previo a ello es fundamental el diagnóstico temprano y preciso de un animal con cáncer ya que el pronóstico puede variar significativamente. No obstante, esto no siempre es fácil debido a la gran variedad de manifestaciones clínicas que acompañan a la gran variedad de neoplasias. Será fundamental una anamnesis detallada junto a los datos de la reseña (edad, raza), una exploración física minuciosa y la ayuda de las técnicas de diagnóstico por imagen, tales como la ecografía, la radiología, la endoscopia o la resonancia magnética, entre otras.

Existe una gran variedad de neoplasias que pueden desarrollar nuestras mascotas caninas, pero en el presente trabajo los tumores mamarios son el objeto de investigación.

Los tumores de mama caninos (TMC) suponen la segunda neoplasia más frecuente en las hembras de la especie canina: llegan a constituir entre el 20 y el 50% de todos los tumores en esta especie<sup>4</sup>. Sin embargo, en muchos de los países en los que la ovariectomía (OHT) juvenil no se practica de forma rutinaria, como en España, es la neoplasia más frecuente. 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%<sup>16</sup>.

Las perras presentan entre 4 y 5 pares de mamas, y todas ellas son susceptibles de desarrollar un tumor de mama. De esta forma, los TMC pueden ser únicos o múltiples (es mucho más común la afectación de más de una glándula mamaria). Aunque existe variación según los estudios publicados, el 50-70% de los TMC son benignos y el 30-50%, malignos. Además, el 50% de los tumores puede metastatizar<sup>1</sup>.

La glándula mamaria es una glándula apocrina modificada propia de los mamíferos. Está formada por una red de conductos rodeados de un estroma fibrovascular y rico en tejido adiposo. 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<sup>8</sup>.

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.

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)<sup>23</sup>.

La edad constituye uno de los factores de riesgo más importantes en el desarrollo de tumores de mama caninos, siendo mucho mayor la incidencia en hembras enteras de edad avanzada. La mayoría de los estudios coinciden en una edad media de aparición de 11 años, con un diagnóstico infrecuente en perras menores de 4 años.

Cuando aparecen lesiones mamarias en perras de 2 a 3 años suele tratarse de displasias, mientras en individuos alrededor de los 5 años la mayoría de los TMC son benignos, es raro encontrar TMC malignos<sup>5,6</sup>. Este hecho viene respaldado por diferentes artículos publicados, pero el más reciente<sup>9</sup> 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.

Por otro lado, la exposición a hormonas endógenas en edades tempranas es una causa importante en el desarrollo de TMC, sobre todo durante los dos primeros ciclos. Tanto en la mama normal como en los tumores se ha evidenciado la presencia de receptores de estrógenos, progestágenos y andrógenos<sup>3,21</sup>. 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 en las displasias<sup>23</sup>.

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%<sup>33</sup>. Debido a que el riesgo de desarrollar incontinencia urinaria tras la esterilización es mayor en OHE y ovariectomías practicadas en perras menores de 3 meses de edad, se recomienda la esterilización de hembras mayores de 3 meses y menores de 1 año<sup>11</sup>.

Por lo tanto, la esterilización a edades adultas, (cuando el tumor aparece clínicamente) no parece tener valor preventivo, aunque sí previene la aparición de tumores benignos así como patologías uterinas y ováricas (hiperplasia endometrial quística, piometras, hemometras, mucometras, hidrómetras, tumores ováricos)<sup>16</sup>. 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<sup>16</sup>.

La administración exógena de estrógenos y progestágenos (especialmente el acetato de medroxiprogesterona), utilizados con el fin de evitar el celo, tratar pseudogestaciones o como abortivos, está directamente relacionada con el desarrollo de estos tumores<sup>16</sup>. Existen estudios que demuestran que hembras tratadas con progestágenos desarrollan antes tumores y con más frecuencia benignos que malignos. En cambio, aquellas hembras tratadas conjuntamente con estrógenos y progestágenos sintéticos desarrollan más tumores malignos<sup>29</sup>.

Los TMC pueden aparecer en hembras de cualquier raza, no se ha podido demostrar predisposición racial<sup>25</sup>, aunque las razas miniatura, enanas y algunas razas grandes puras aparecen con más frecuencia en los estudios epidemiológicos. Sin embargo estos datos varían significativamente en función del lugar donde se recogen.

Por ejemplo, las hembras de raza Bóxer, que en artículos procedentes de Estados Unidos no aparecen como razas predispuestas<sup>1</sup> en artículos Europeos su aparición es cada vez más frecuente<sup>2,19</sup>.

Existe también evidencia de que la obesidad dentro del primer año de vida de la perra favorece el desarrollo de TMC<sup>25</sup>. En un estudio realizado<sup>31</sup> en el que se relacionaba 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. Otro estudio destacó que la obesidad en el primer año de edad casi triplicaba la incidencia de tumores mamarios en perras enteras<sup>25</sup>.

En cuanto a factores genéticos, se ha investigado también la presencia de mutaciones en los genes p53, cerbB2 y Ras en TMC<sup>13</sup>.

En resumidas cuentas, la presentación típica de una perra con tumores de mama es la de una hembra entera con una edad comprendida entre los 9 y los 11 años con uno o varios tumores palpables que afectan a una o a 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), 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).

El procedimiento diagnóstico comienza por incluir una reseña del animal (sexo, edad, raza, lugar de residencia, aptitud...) seguida de una anamnesis exhaustiva acerca del estado general del paciente (con el fin, entre otros, de descartar otras enfermedades) y continuar con la anamnesis y exploración oncológica, en la que se preguntará sobre el padecimiento de TMC anteriores (lo cual predispone al desarrollo de nuevos TMC), el momento de aparición del tumor o tumores, el tamaño que tenía cuando lo descubrieron y su ritmo de crecimiento (un ritmo rápido de crecimiento implica normalmente un comportamiento biológico agresivo)<sup>18</sup>.

La exploración oncológica supone la palpación de todas las mamas con el fin de comprobar la presencia y localización de tumores y ver si existen o no adherencias a la piel y planos profundos y presencia de úlceras y crecimiento infiltrativo (características clínicas de malignidad)<sup>6,15</sup>, así como la medición de su tamaño con la ayuda de un calibre. Además, se palparán todos los linfonodos superficiales craneales y caudales en busca de alguna alteración en su tamaño, consistencia y/o temperatura.

Por otro lado, 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 establecimiento del estadio clínico permite conocer la progresión del tumor y elegir la mejor opción terapéutica para el paciente, así como emitir un pronóstico aproximado. Por lo tanto, antes de tomar ninguna decisión intervencionista se debe conocer el sistema TNM para los TMC<sup>24</sup>, en el que T hace referencia al tamaño del tumor (en su diámetro mayor), N a la afección o no de los linfonodos regionales y M a la presencia o no de metástasis a distancia.

Es fundamental conocer el tamaño (T) de todos y cada uno de los nódulos, de forma que a mayor T, peor es el pronóstico<sup>15</sup>. La importancia de registrar los T de todos los tumores mamarios radica en que, una vez se tenga el diagnóstico histopatológico, este debe contrastarse con cada TMC explorado para poder emitir un pronóstico (Tabla 1).

Tabla 1. Determinación del tamaño (T) en función del peso <sup>15</sup>		
T	Perra > 10 Kg	Perra de < 10 Kg
1	< 3 cm	< 2 cm
2	3 – 5 cm	2 – 3 cm
3	> 5 cm	> 3 cm

En determinadas ocasiones puede estar indicado el uso de diagnóstico citopatológico en los tumores de mama, realizada mediante una punción-aspiración con aguja fina (PAAF) con el objetivo de diferenciar si la lesión es inflamatoria o neoplásica o, en caso de ser tumoral, descartar que no se trate de cualquier otro tipo de tumor cutáneo (como lipomas, mastocitomas, hemangiosarcomas...) siempre y cuando no sea evidente que se trate de un TMC.



Sin embargo, la citología es limitada<sup>16</sup> 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.

A continuación se debe descartar la presencia de metástasis regional (N) o a distancia (M). El método más eficaz para evaluar y confirmar la existencia de metástasis en linfonodos (Lnn) es realizar una o varias citologías mediante la técnica de punción con aguja fina<sup>27,30</sup> de los linfonodos que se encuentren aumentados de tamaño (inguinales/axilares)<sup>12</sup> (Tabla 2).

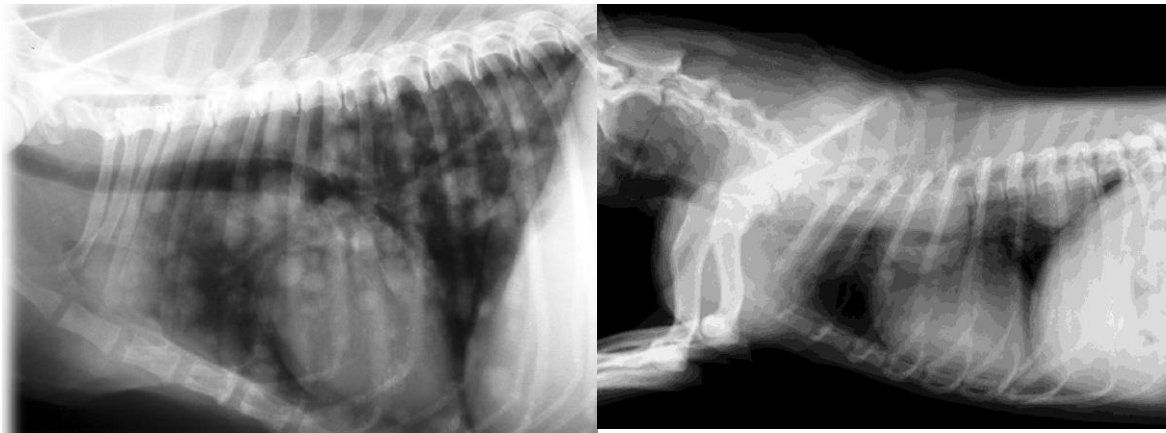
<b>Tabla 2: Determinación del parámetro N (estado de los nódulos linfáticos regionales)<sup>12</sup></b>	
<b>N0</b>	No hay presencia de metástasis citológicas o histológicas
<b>N1</b>	Hay presencia de metástasis citológicas o histológicas

Además, siempre y cuando sea posible, se recomienda la PAF de todos los linfonodos que drenan la cadena mamaria, aunque durante la exploración sean clínicamente normales, con el fin de detectar micrometástasis.

Es importante resaltar que el drenaje linfático mamario, en condiciones normales, difiere del drenaje linfático cuando existe una neoplasia mamaria<sup>10</sup> (Tabla 3).

<b>Tabla 3. Drenaje linfático en las glándulas mamarias normales y neoplásicas en la perra<sup>10</sup></b>		
<b>Glándula mamaria</b>	<b>Drenaje linfático normal</b>	<b>Drenaje linfático en TNM</b>
<b>1ª</b>	Lnn axilar ipsilateral	Lnn axilar/ esternal
<b>2ª</b>	Lnn axilar ipsilateral	Lnn axilar/ esternal
<b>3ª</b>	Lnn axilar (más frecuente) /inguinal	Lnn axilar/ inguinal/ ilíaco medial
<b>4ª</b>	Lnn inguinal ipsilateral	Lnn inguinal / axilar
<b>5ª</b>	Lnn inguinal ipsilateral	Lnn inguinal/ poplíteo/vasos linfáticos mediales del muslo

Con el fin de establecer el parámetro M (Metástasis a distancia), se debe tener en cuenta que los lugares más frecuentes de metástasis a distancia son los pulmones, los ganglios intratorácicos, los nódulos linfáticos sublumbar, el hígado y el bazo<sup>16</sup>. Por ello, se deben realizar radiografías de tórax (al menos tres proyecciones: LLD: laterolateral derecha, LLI: laterolateral izquierda, VD: ventrodorsal o DV: dorsoventral) (Figuras 1 y 2).



*Figuras 1 y 2: Radiografías laterolaterales de tórax (LL): Patrón pulmonar compatible con metástasis*

Siguiendo los principios de diagnóstico por imagen, la realización de una Tomografía Computerizada (TC) permite proporcionar un estadio clínico más preciso que el radiológico a la hora de confirmar o descartar la presencia de metástasis a distancia.

Por otro lado resulta muy interesante y de gran ayuda, aunque no es imprescindible, realizar una ecografía de abdomen, sobre todo si se confirma la presencia de metástasis en tórax y si se sospecha de una neoplasia maligna en las mamas inguinales<sup>10</sup> (Tabla 4).

Tabla 4: Determinación del parámetro M (metástasis a distancia) <sup>10</sup>	
<b>M0</b>	Sin metástasis detectables
<b>M1</b>	Con metástasis detectables

Una vez obtenidos los datos descritos hasta el momento, se establece el estadio clínico<sup>16</sup> (Tabla 5), que está directamente relacionado con el pronóstico, de forma que los pacientes que presenten metástasis regional (N1) o a distancia (M1) (estadios IV y V) tienen un peor pronóstico.

Tabla 5: Estadio clínico para los TMC según la OMS (modificada) <sup>16</sup>			
Estadio	T	N	M
I	1	0	0
II	2	0	0
III	3	0	0
IV	Cualquiera	1	0
V	Cualquiera	Cualquiera	1

La elección del tratamiento ideal para cada paciente se realiza en función del TNM (véase Tabla 6). Hasta el momento el tratamiento más eficaz, siempre que sea factible, es la exéresis quirúrgica del tumor o los tumores; pueden realizarse cirugías curativas o paliativas. 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.

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 cuya denominación 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 que se encuentran enrojecidas, calientes, endurecidas, dolorosas, edematosas y eritematosas (Figuras 3 y 4). 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 antcox2, como piroxicam (Feldene R) o firocoxib (Previcox R) debido a sus propiedades antiproliferativas (anticox2) y de quimioterapia neoadyuvante (mitoxantrona, doxorubicina o carboplatino)<sup>23</sup>.



*Figura 3. Carcinoma inflamatorio en estado inicial    Figura 4. Carcinoma inflamatorio en fase avanzada*

Existen varias técnicas quirúrgicas y su elección dependerá del número, del tamaño y localización de los tumores, de si existe o no afectación ganglionar o no, así como 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 1 cm en su diámetro mayor, 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 (generalmente tras un mes y medio) se procederá a la extirpación de la cadena contralateral<sup>16</sup>.

Hasta hace pocos años se consideraba que cuanto más radical fuera la cirugía, mejor sería el pronóstico; sin embargo, en los últimos años (en paralelo a lo que sucede en medicina humana), se tiende a realizar cirugías más conservadoras, sin que parezca que influya en el pronóstico, siempre y cuando se establezcan unos márgenes quirúrgicos adecuados<sup>16</sup>.

Tabla 6. Tratamiento quirúrgico de elección en función del estadio clínico <sup>16</sup>	
Estadio clínico	Tratamiento quirúrgico
I con tumores < 1 cm en su T mayor	Nodulectomía
I con tumores > 1 cm en su T mayor	Mastectomía local
II	Mastectomía local/parcial
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 estudios más exhaustivos, GEVONC recomienda cirugías radicales en estadios IV siguiendo los principios de la cirugía oncológica general.

\*\*\* Por ejemplo en aquellas hembras con TMC ulcerados que, a pesar de presentar metástasis a distancia, conservan una calidad de vida adecuada.

Es conveniente destacar varios puntos:

1. Siempre se elegirá la cirugía menos agresiva para el paciente que permita unos márgenes quirúrgicos adecuados (al menos 2 cm).
2. En los casos en que se detecten nódulos en varias mamas, se deben extirpar todos sin excepción, por lo que, aunque los TMC presenten un T1, debe valorarse la posibilidad de practicar una mastectomía regional o total en lugar de múltiples nodulectomías, pues el tiempo anestésico es menor y el procedimiento quirúrgico más corto, lo que repercute a la recuperación postquirúrgica del paciente. Aunque los tumores sean potencialmente benignos por sus características clínicas (pequeño tamaño, crecimiento lento...), existe evidencia contrastada de la malignización de las lesiones con el paso del tiempo<sup>32</sup>.
3. Se ha podido demostrar que el 60% de las perras operadas de TMC desarrollan nuevos tumores en la cadena mamaria ipsilateral después de una mastectomía regional<sup>35</sup>.
4. Por lo general se recomienda la realización de la OHT en el momento del tratamiento quirúrgico de los TMC con el fin de prevenir el desarrollo de piometras, neoplasias genitales y para la prevención del desarrollo de displasias y neoplasias mamarias benignas. Sin embargo, existe controversia sobre la influencia de la OHE en el pronóstico de los TMC malignos; algunos estudios describen un mejor pronóstico en las hembras sometidas a OHT en el momento de la mastectomía<sup>33</sup>, mientras que en otros no se asocia a un mejor pronóstico<sup>16</sup>.

El diagnóstico definitivo se obtiene siempre tras el examen anatómo-patológico de las biopsias obtenidas. Para ello, es fundamental remitir el tejido extirpado (nódulo, glándula mamaria, varias glándulas y tejido intermamario en el caso de mastectomías parciales o completas), así como los márgenes quirúrgicos (con el fin de conocer si existe invasión o no en dichos márgenes y en los vasos linfáticos regionales) a un Servicio de Anatomía Patológica, correctamente identificados (idealmente en recipientes independientes).

Debe emplearse formol al 10% cuyo volumen ha de ser 10-20 veces el volumen de la muestra. Así mismo, las muestras deben incluirse en dicho formol lo antes posible para evitar que se produzcan fenómenos de autólisis.

El conocimiento del tipo histológico y el grado histológico de malignidad es fundamental para ajustar el tratamiento posterior a cada paciente y establecer el pronóstico. Los distintos tipos histológicos tienen diferente evolución<sup>26</sup>. Dada la complejidad de la clasificación histológica y debido a la repercusión en el pronóstico, es conveniente establecer el grado histológico de malignidad (GHM) basado en el grado de diferenciación de las células neoplásicas y la proliferación del tumor y que incluye tres tipos: I o bien diferenciado, II o moderadamente diferenciado y III o indiferenciado<sup>22</sup>.

Antes de explicar los diferentes tipos histológicos más frecuentes, cabe tener en cuenta que la glándula mamaria está formada por tres tipos celulares (células epiteliales, células mioepiteliales y tejido conjuntivo o mesenquimal), todos ellos susceptibles de tumorizarse.

También hay que tener en cuenta que el término “simple” significa que únicamente está afectada la estirpe epitelial, el término “complejo” implica la proliferación de las células mioepiteliales, lo que, en líneas generales, supone un mejor pronóstico (son menos agresivos biológicamente); el término “tumor mixto” supone la proliferación de la estirpe epitelial y mesenquimal.

Según la clasificación de GOLDSCHMIDT et al. 2011<sup>8</sup> ([anexo: Tabla 1](#)) se describen las neoplasias mamarias siguientes de mejor a peor pronóstico:

1. Carcinoma in situ: Proliferación de la estirpe epitelial sin que llegue a atravesar la membrana basal. Normalmente la exéresis quirúrgica con márgenes suele ser curativa.
2. Carcinoma complejo: Proliferación de la estirpe epitelial y mioepitelial. Siempre y cuando se trate de un TMC con un GHM I, la exéresis quirúrgica es curativa.
3. Carcinoma simple (túbulo-papilar, sólido, anaplásico): proliferación de la estirpe epitelial más allá de la membrana basal, que puede ir desde un intento de mantener un patrón de crecimiento normal (tubular, papilar) a un crecimiento sólido en el que se pierde la luz del acino mamario (sólido) hasta un grado de indeferenciación tal que en ocasiones no es posible identificar la estirpe (anaplásico). En este caso el pronóstico depende de varios factores, como el GHM.

4. Carcinosarcoma: Proliferación neoplásica con características de malignidad de la estirpe epitelial y de la estirpe mesenquimal. Siempre implica un pronóstico reservado.
5. Sarcoma: Proliferación de la estirpe mesenquimal. En este caso, el pronóstico será el del sarcoma en concreto que se haya diagnosticado (no es aplicable el GHM que se utiliza para los TMC de origen epitelial).

Entre los tumores benignos el tumor mixto benigno es el más frecuente y entre los tumores malignos destaca el carcinoma sólido<sup>5</sup>. Es posible la malignización de tumores mamarios benignos, por lo que si no se extirpan pueden evolucionar a tipos histológicos malignos. 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<sup>5</sup>.

Debido a que lo más frecuente es que la perra presente más de un TMC y que estos tengan diagnósticos histopatológicos diferentes, siempre será el tumor con el diagnóstico de mayor malignidad el que emitirá el pronóstico (teniendo siempre en cuenta sus características clínicas, especialmente el tamaño). En líneas generales (a excepción del carcinoma inflamatorio), los sarcomas tienen peor pronóstico que los carcinomas<sup>12,18</sup>.

Además del estudio histopatológico de rutina existen técnicas de inmunohistoquímica (IHQ) que permiten afinar más el pronóstico<sup>3,15,20</sup>. Sin embargo, no se emplean de forma habitual debido a su coste y la falta de disponibilidad.

El empleo de quimioterapia se sugiere como tratamiento neoadyuvante (previa a la cirugía en aquellos animales con afectación local avanzada), coadyuvante a la cirugía (animales sin metástasis pero con un pronóstico clínico e histológico malo), tratamiento paliativo en neoplasias no operables para los tumores de elevada malignidad (GHM III) o en estadios clínicos III y IV, así como en estadio clínico V<sup>7,30</sup>. Se proponen los siguientes protocolos quimioterápicos<sup>11</sup>:

- 5-fluoracilo (5-FU) (150 mg/m<sup>2</sup> IV 1 vez a la semana, 4 dosis en total), combinado con ciclofosfamida (100 mg/m<sup>2</sup> IV o PO 1 vez a la semana, 4 dosis en total)
- Mitoxantrona (5 mg/m<sup>2</sup> IV cada 3 semanas con un total de 3 a 5 dosis) + Antiinflamatorio no esteroideo (AINE's)



- Gemcitabina (800 mg/m<sup>2</sup>/semana IV, un total de 4 dosis)
- Doxorubicina (30 mg/m<sup>2</sup> IV/ 3 semanas o 25 mg/m<sup>2</sup> si el peso es menor de 15 Kg, un total de 4-5 dosis)

Además de ello, actualmente se ha demostrado la eficacia del uso de inhibidores selectivos de la COX-2 (solos<sup>7</sup> o en combinación con citostáticos) debido a la mayor expresión de esta isoenzima en neoplasias malignas y su relación con un pronóstico desfavorable.

Por otro lado, se ha demostrado también la sobreexpresión del receptor del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGFR) y cómo el tratamiento in vitro de líneas celulares con inhibidores de la tirosina quinasa (ITK), como el Toceranib fosfato (Palladia®), inhiben el crecimiento tumoral, la angiogénesis, la capacidad de metástasis y la capacidad de invasión<sup>11</sup>.

Por último, se ha planteado la terapia metronómica en el cáncer de mama, es decir, el empleo de dosis bajas y continuadas de agentes alquilantes en combinación o no con un AINE con el fin de reducir el crecimiento tumoral mediante la inhibición de la angiogénesis; sin embargo, no hay ningún resultado concluyente de la misma hasta el momento. Parece que resulta útil en pacientes de edad avanzada, estadio V o en pacientes con enfermedades concomitantes que impidan tratamientos tradicionales (ciclofosfamida a dosis de 12.5-25 mg/m<sup>2</sup>/24h PO o clorambucilo a dosis de 6-8 mg/m<sup>2</sup>/48h PO)<sup>17</sup>.

También es importante en la elección del protocolo la comodidad tanto del propietario como del veterinario con el uso de los distintos fármacos, así como disponer de medidas de protección adecuadas para el manejo de los fármacos citotóxicos, por su potencial teratogénico y carcinogénico: guantes estériles, bata desechable, gafas de protección, mascarilla (Figura 5), sistema Phaseal (Figura 7) o incluso una campana de flujo laminar. Además de dichas precauciones se deberá depositar el material empleado en contenedores específicos para residuos citotóxicos (Figura 6) que serán recogidos por la empresa contratada para dicho fin. Es importante que el veterinario informe a los propietarios en cómo realizar una correcta manipulación de los fármacos quimioterápicos en casa, especialmente si convive con personas inmunodeprimidos y mujeres embarazadas.





*Figura 5. Guantes de exploración, gafas protectoras y mascarilla*



*Figura 6. Contenedor de residuos citotóxicos del Hospital Veterinario de Zaragoza.*



*Figura 7. Sistema Phaseal: Sistema cerrado que se emplea para la administración de fármacos citotóxicos con el fin de evitar el paso de los mismos al ambiente.*

El seguimiento de nuestros pacientes es fundamental para el mantenimiento de su calidad de vida. Si se trata de un TMC benigno con características clínicas de benignidad, en principio se considera que la enfermedad está controlada. No obstante, se debe informar al propietario de que su mascota tiene mayor riesgo a padecer nuevos TMC. Si se trata de un TMC benigno y, sin embargo, las características clínicas sugieren malignidad, o bien si el diagnóstico histopatológico es el de un tumor maligno dentro de un tumor benigno, GEVONC (Grupo de Especialistas Veterinarios en Oncología de AVEPA) recomienda realizar 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 incluirá una historia clínica y una exploración física completa, palpación de las mamas, del tejido intermamario y de los linfonodos regionales, analíticas sanguíneas, radiografías de tórax y ecografías de abdomen<sup>11</sup>.

### **3. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS**

La creciente preocupación del bienestar de nuestras mascotas, la consideración de las enfermedades neoplásicas como una enfermedad crónica más y el esfuerzo de aportar un servicio veterinario de calidad, hacen merecedoras a las neoplasias de mama de ser objeto del presente trabajo.

Para ello, los principales fines del mismo han sido:

1. Estudio y seguimiento de los casos clínicos diagnosticados de tumor de mama en la Consulta de Oncología del Hospital Veterinario de la Universidad de Zaragoza desde Octubre de 2014 a Mayo de 2015, profundizando con ello en la formación en la especialidad de Oncología veterinaria.
2. Recopilación de la información completa y detallada de dichos casos clínicos en una ficha clínica específica para cada paciente e incluida en una base de datos informática creada exclusivamente para este fin con el objetivo de llevar a cabo el estudio de la casuística de los tumores de mama en la especie canina.
3. Estudio de los resultados obtenidos extrayendo las conclusiones más significativas en la especie canina.

#### **4. RECURSOS Y METODOLOGÍA**

Dado que se han perseguido distintos objetivos se tratarán a continuación los recursos utilizados en cada uno de ellos de manera independiente.

1. Estudio y seguimiento de los casos clínicos diagnosticados de tumor de mama en la Consulta de Oncología del Hospital Veterinario de la Universidad de Zaragoza desde Octubre de 2014 a Mayo de 2015

Tras recibir la visita de un paciente en la consulta de Oncología con sospecha de tumores de mama en una o ambas cadenas, se inicia el protocolo diagnóstico con el fin de confirmar dicha sospecha y de valorar si dicho paciente es candidato para someterle a un tratamiento quirúrgico.

Durante el curso académico 2014-2015 fueron atendidas un total de 27 perras con tumores de mama, de las cuales, 2 de ellas fueron diagnosticadas de carcinoma inflamatorio. Estas pacientes fueron excluidas del estudio por no estar indicada la cirugía en este tipo de tumores y debido a la sintomatología que presentaron y al calibre de dicho tumor, se recomendó la eutanasia por estar claramente justificada.

Además de ello, gracias a que he podido disponer de los datos clínicos y los informes de biopsia de pacientes que fueron diagnosticados y tratados de tumores de mama en años anteriores, en el estudio se han recopilado un total de 60 casos comprendidos entre Diciembre de 2011 y Mayo de 2015.

2. Recopilación de la información completa y detallada de dichos casos clínicos en una ficha clínica específica para cada paciente e incluida en una base de datos informática creada exclusivamente para este fin con el objetivo de llevar a cabo el estudio de la casuística de los tumores de mama en la especie canina.

En la consulta de Oncología, con el fin de llevar a cabo un protocolo diagnóstico, en primer lugar se recogen los siguientes datos de interés para cada paciente en una ficha clínica (anexo: Figura 1):

- 1) Nombre, número de historial, fecha de la consulta, especie, raza, fecha de nacimiento (edad) y el sexo del animal.
- 2) Examen físico general y valoración de la condición corporal.
- 3) Historial previo de neoplasias.
- 4) 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.
- 5) 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.
- 6) Exploración de los linfonodos axilares e inguinales.
- 7) Radiografías de tórax, en busca de la presencia de metástasis torácicas.
- 8) Ecografía de abdomen, para detectar posibles lesiones en ovarios y útero así como descartar la presencia de metástasis abdominales (ganglios mesentéricos, bazo, hígado).
- 9) Citología de mama y/o de linfonodos axilares e inguinales.
- 10) Determinar el estadio clínico del paciente según el sistema TMN, a partir de los datos reunidos anteriormente.

Con los datos recogidos se remite el caso a la Consulta de Cirugía en la que se reevalúa al paciente con el fin de realizar una valoración preoperatoria, estimar el riesgo anestésico de dicho paciente y valorar el tipo de cirugía a llevar a cabo. En los pacientes que presentan tumores en ambas cadenas, se programa primero la cirugía de la cadena con tumores de mayor tamaño y tras la cicatrización completa de la misma (transcurrido, aproximadamente, un mes y medio), se programa la segunda cirugía para la extirpación de la cadena contralateral.

Finalmente, una vez recopilados todos los datos de cada uno de los pacientes, se incluyen en una base de datos informatizada, herramienta fundamental para poder llevar a cabo este estudio y creada exclusivamente para dicho fin (anexo: Figura 2). Dicha base de datos es **Microsoft Access 2007 – 2010** y recibe el nombre de **“Base de datos de tumores mamarios en pequeños animales”** y en ella se incluyen los siguientes apartados:

- 1) Número de historial
- 2) Datos del animal
  - a. Nombre
  - b. Especie: Perra; Gata
  - c. Raza
  - d. Fecha de nacimiento: dd/mm/aa
  - e. Aptitud: Caza; Compañía; Guarda; Guía; Pastor; Reproductor; Otros
  - f. Residencia: Zona urbana; Zona rural
  - g. Condición corporal: NS/NC; 1; 2; 3; 4; 5.
  - h. Historial previo de neoplasias: NS/NC; No; Si
  - i. Tipo de neoplasia
- 3) Datos reproductivos
  - a. Nº de ciclos estrales previos
  - b. Presentación de celos: Inferior a lo normal; Normal; Superior a lo normal
  - c. Nº de partos
  - d. Edad al primer parto (años)
  - e. ¿Ha padecido alguna vez piometra?: NS/NC; No; Si
  - f. ¿Ha experimentado pseudogestaciones?: NS/NC; No; Si
  - g. ¿Ha presentado alguna lesión en ovario o útero?: NS/NC; No; Si
    - i. En caso afirmativo, indicar cuáles
  - h. ¿Se le han administrado tratamientos hormonales?: NS/NC; No; Si
    - i. En caso afirmativo, indicar cuáles
  - i. ¿se le ha practicado una ovariectomía (OHT)? : NS/NC; No; Si
    - i. En caso afirmativo, indicar edad (años) a la que se realizó la OHT
- 4) Nódulos
  - a. Fecha diagnóstico del tumor: dd/mm/aa
  - b. Tiempo de crecimiento: NS/NC; <1 mes; 1-3 meses; 3-6 meses; >6 meses
  - c. Localización: R1; R2; R3; R4; R5; L1; L2; L3; L4; L5

d. Tamaño: NS/NC; <5 cm; 0`5-3 cm; 3-5 cm; >5 cm.

e. Ulceración: NS/NC; No; Si

f. Adherencias: NS/NC; No; Si

g. Tipo histológico

i. Adenoma complejo / benigno

ii. Adenoma simple / benigno

iii. Adenoma simple tubulopapilar / benigno

iv. Adenosis / benigno

v. Carcinoma complejo / I

vi. Carcinoma de células escamosas / I

vii. Carcinoma sólido / II

viii. Carcinoma tubulopapilar / I

ix. Fibroadenoma / benigno

x. Mama normal / benigno

xi. Mixto benigno / benigno

xii. Papiloma ductal / benigno

h. Grado histológico: I; II; III

#### 5) Tratamientos

a. Estadío clínico: NS/NC; I; II; III; IV; V

b. Linfonodo inguinal: NS/NC; Normal; Afectado

c. Linfonodo axilar: NS/NC; Normal; Afectado

d. Metástasis: NS/NC; No; Tórax; Abdomen; Ambos

e. Fecha cirugía: dd/mm/aa

f. Mama/nódulo extirpado: R1; R2; R3; R4; R5; L1; L2; L3; L4; L5; OHT

g. Quimioterapia adyuvante: NS/NC; No; 5-FU; Doxorubicina;  
Carboplatino; Cisplatino; Mitosantrona + AINE

i. Fecha inicio

ii. Fecha fin

h. Quimioterapia metronómica adyuvante: NS/NC; No; Ciclofosfamida +  
AINE; Ciclofosfamida + AINE + Palladia; Palladia + AINE

i. Fecha inicio

ii. Fecha fin

- i. Quimioterapia metronómica post-adyuvante: NS/NC; No; Clorambucilo + AINE; Ciclofosfamida + AINE
    - i. Fecha inicio
    - ii. Fecha fin
  - j. Fecha último control (sano): dd/mm/aa
  - k. Fecha recaída: dd/mm/aa
  - l. Fecha muerte: dd/mm/aa
- 6) Observaciones

## 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados estadísticos obtenidos a partir de la base de datos previamente descrita son los siguientes:

De los 60 casos estudiados, un 86.4% proceden de zona urbana y un 13.6% de zona rural, teniendo en cuenta que de un caso no se pudo obtener información. Con esto se puede plantear o bien que los propietarios que viven en la zona urbana acuden más al veterinario, que la densidad poblacional canina es menor en la zona rural o bien que la prevalencia de tumores de mama en dicha zona es menor.

En referencia a la condición corporal (escala de 1 a 5, 1: muy delgado y 5: obeso) un 86.8% tiene una condición de 3, es decir, no se puede confirmar con estos datos que la obesidad sea un factor de riesgo (Tabla 7).

En cuanto al historial previo de neoplasias, la gran mayoría de los animales (76.2%) no habían padecido ninguna neoplasia, por lo que se puede determinar que el hecho de haber padecido una enfermedad neoplásica no supone un mayor riesgo al desarrollo de tumores de mama (Tabla 8).

Tabla 7. Condición corporal		
	Frecuencia	Porcentaje (%)
<b>2</b>	2	3,8
<b>3</b>	46	86,8
<b>4</b>	5	9,4
<b>Total</b>	53	100

Tabla 8. Historial previo de neoplasias		
	Frecuencia	%
<b>No</b>	16	76,2
<b>Sí</b>	5	23,8
<b>Total</b>	21	100

Tan solo un 15.8% de las hembras había recibido tratamiento hormonal con el fin de inhibir el celo. Este dato no resulta relevante ya que se desconoce el número total de hembras que han sido tratadas hormonalmente en el HVUZ durante este periodo (Tabla 9).

Un 85.2% de los pacientes tenía una presentación de ciclos normal (2/año). Con esto se concluye que la presentación irregular de celos no supone un mayor riesgo al desarrollo de tumores de mama (Tabla 10).

Tabla 9. Tratamientos hormonales		
	Frecuencia	%
No	48	84,2
Sí	9	15,8
Total	57	100

Tabla 10. Nº de ciclos		
	Frecuencia	%
1	6	11,1
2	46	85,2
3	1	1,9
4	1	1,9
Total	54	100

La mayoría de las hembras no habían sufrido una piometra (86%), pseudogestaciones (64.9%) ni otras lesiones reproductivas (de ovario/útero) (77.8%) hasta el momento del diagnóstico, por lo que no se puede concluir que dichas patologías supongan un riesgo para el desarrollo de tumores de mama.

Respecto al número de partos y a la edad al primer parto, de las 60 hembras estudiadas, tan solo habían parido 6 de ellas, de las cuales la mitad tenía 5 años; las tres hembras restantes tenían 1, 2 y 6 años respectivamente. Al disponer de tan pocos datos, los resultados porcentuales no son significativos.

En relación a la OHT, se concluye que las hembras no sometidas a esta cirugía (60.3%) tienen más posibilidades de desarrollar este tipo de neoplasia. La incidencia se reduce drásticamente (al 0.05%) cuando las hembras son sometidas a edades tempranas a esterilización<sup>33</sup>; sin embargo, los datos reales de este estudio nos dicen que, en nuestro entorno, las hembras son esterilizadas a partir de los 3 años, siendo la edad media de 8.3. Esto demuestra lo importante que resulta concienciar a los propietarios de esterilizar a sus mascotas, preferiblemente, entre los 3 meses y el año de vida<sup>11</sup> (Tablas 11 y 12).

Tabla 11. Edad OHT (años)	
Válidos	23
Media	8,3
Desviación típica	2,098
Mínimo	3
Máximo	11

Tabla 12. Edad OHT (años)		
	Frecuencia	%
3	1	4,3
4	1	4,3
6	2	8,7
7	2	8,7
8	5	21,7
9	5	21,7
10	4	17,4
11	3	13
Total	23	100

De la información obtenida acerca de los nódulos diagnosticados se extrae que más de la mitad de las hembras (60.1%) presentaban de 1 a 3 nódulos (Tabla 13). Respecto a la localización de los nódulos, de los 150 diagnosticados, casi una tercera parte (30.6%) se encontraban en la segunda mama abdominal de ambos lados (R4 y L4) (tabla 14 y Tabla 15). Además de ello, la probabilidad de existir un nódulo es, prácticamente, la misma en ambas cadenas mamarias (Tabla 16).

Tabla 13. Nº de Nódulos		
	Frecuencia	%
1	13	21,7
2	13	21,7
3	10	16,7
4	8	13,3
5	7	11,7
6	4	6,7
7	1	1,7
8	2	3,3
10	1	1,7
14	1	1,7
Total	60	100

Tabla 14. Localización del nódulo		
	Frecuencia	%
R1	8	5,3
R2	21	14
R3	15	10
R4	23	15,3
R5	13	8,7
L1	5	3,3
L2	13	8,7
L3	12	8
L4	23	15,3
L5	17	11,3
Total	150	100

Tabla 15. Posición de la mama		
	Frecuencia	%
Pectoral	47	31,3
Abdominal	73	48,7
Inguinal	30	20
Total	150	100

Tabla 16. Cadena mamaria afectada		
	Frecuencia	%
Derecha	80	53,3
Izquierda	70	46,7
Total	150	100

La mayoría de los nódulos diagnosticados tienen un tamaño menor a 3 cm (89.6%) (Tabla 17). Respecto a la correlación entre el número de nódulos y la edad al primer diagnóstico se obtiene un dato significativo ( $r=0.323$ ;  $p=0.012$ ); las hembras de mayor edad presentaban un mayor número de nódulos (Tabla 18).

Tabla 17: Tamaño del nódulo		
	Frecuencia	%
<0,5 cm	60	48
0,5-3 cm	52	41,6
3-5 cm	6	4,8
>5 cm	7	5,6
Total	125	100

Tabla 18. Nº nódulos – Edad primer parto		
Estadísticos	Nº de nódulos tumorales	Edad al primer diagnóstico (años)
Válidos	60	60
Media	3,45	9,588
Desviación típica	2,473	2,3078
Mínimo	1	4
Máximo	14	15,2

Además de ello, los nódulos no suelen presentar ulceración (98.6%) (Tabla 19) ni adherencias (86.7%) (Tabla 20), lo cual es signo de benignidad.

Con respecto al tiempo de crecimiento, más de la mitad de los propietarios (50.6%) informan que han observado dicho/s nódulo/s hace más de medio año, deduciendo con ello que la mayoría de los propietarios no le dan la relevancia que merece a la presencia de un nódulo en la mama (Tabla 21).



Tabla 19: Ulceración		
	Frecuencia	%
No	145	98,6
Sí	2	1,4
<b>Total</b>	<b>147</b>	<b>100</b>

Tabla 20: Adherencias		
	Frecuencia	%
No	124	86,7
Sí	17	11,9
<b>Total</b>	<b>143</b>	<b>100</b>

Tabla 21. Tiempo de crecimiento		
Tiempo	Frecuencia	%
<1 mes	15	18,1
1-3 meses	16	19,3
3-6 meses	10	12
>6 meses	42	50,6
<b>Total</b>	<b>83</b>	<b>100</b>

Dos aspectos de gran relevancia son el tipo y el grado histológico de los nódulos analizados en el servicio de Anatomía Patológica. Resultaron ser nódulos malignos de grado I el Carcinoma complejo, el Carcinoma de células escamosas y el Carcinoma tubulopapilar; de grado II el carcinoma sólido y los restantes se engloban dentro de las neoplasias benignas. Se concluye que la gran mayoría de las neoplasias extirpadas han resultado benignas (84%) (Tabla 22). De las 150 muestras analizadas, un alto porcentaje no presentaban ningún tipo de tumor (24%), lo cual explica que la mayoría de las intervenciones quirúrgicas realizadas en el HVUZ son mastectomías regionales y radicales. De entre las neoplasias benignas, las más prevalentes son el adenoma complejo (17.3%) y el tumor mixto benigno (14%) (Tabla 23).

Tabla 22. Grado histológico		
Grado histológico	Frecuencia	Porcentaje
Benigno	126	84
I	16	10,7
II	8	5,3
<b>Total</b>	<b>150</b>	<b>100</b>

Tabla 23. Tipo histológico		
Tipo Histológico	Frecuencia	Porcentaje
Adenoma complejo	26	17,3
Adenoma simple	12	8
Adenoma simple tubulopapilar	9	6
Adenosis	6	4
Carcinoma complejo	7	4,7
Carcinoma de células escamosas	1	0,7
Carcinoma sólido	8	5,3
Carcinoma tubulopapilar	8	5,3
Fibroadenoma	15	10
Mama normal	36	24
Mixto Benigno	21	14
Papiloma ductal	1	0,7
<b>Total</b>	<b>150</b>	<b>100</b>

En el estudio estadístico se planteó la asociación entre la zona de residencia y el grado histológico mediante la significación de la prueba de Chi-cuadrado de Pearson o la razón de verosimilitudes en función del % obtenido (>20%: Razón de verosimilitudes; <20%: Chi-cuadrado), midiendo, de esta manera, la discrepancia entre la distribución observada y la esperada. De esta correlación se obtiene un resultado no significativo (>0.05, se rechaza la hipótesis). Así mismo, se planteó también la asociación entre la condición corporal, el historial previo de neoplasias, los tratamientos hormonales, la OHT, el padecimiento de piometras, lesiones reproductivas y pseudogestaciones, la presencia de adherencias, el tiempo de crecimiento y la cadena mamaria afectada con el grado histológico obteniéndose un resultado, en todas ellas, no significativo.

Sin embargo, se ha obtenido significación en la asociación entre el tamaño del nódulo (Tabla 24), la presencia de ulceración (Tabla 25) y la mama afectada (pectoral, abdominal o inguinal) (Tabla 26) con el grado histológico, concluyendo que un tamaño superior a 3 cm y la presencia de ulceración son signos evidentes de malignidad. Por otro lado, la presencia de neoplasia/s en las mamas inguinales implica un mayor grado de malignidad que las presentes en mamas torácicas y/o abdominales.

Tabla 24. Tabla de contingencia, Tamaño del nódulo					
		Grado			Total
		Benigno	I	II	
Tamaño del nódulo	<0,5 cm	93,30%	5,00%	1,70%	100,00%
	0,5-3 cm	76,90%	15,40%	7,70%	100,00%
	3-5 cm	50,00%	33,30%	16,70%	100,00%
	>5 cm	42,90%	42,90%	14,30%	100,00%
Total		81,60%	12,80%	5,60%	100,00%
Significación de la prueba de Razón de verosimilitudes, $p = 0.013$					

Tabla 25. Tabla de contingencia, Ulceración					
		Grado			Total
		Benigno	I	II	
Ulceración	No	84,80%	10,30%	4,80%	100,00%
	Sí		50,00%	50,00%	100,00%
Total		83,70%	10,90%	5,40%	100,00%
Significación de la prueba de Razón de verosimilitudes, $p = 0.022$					

Tabla 26. Tabla de contingencia, Posición de la mama					
		Grado			Total
		Benigno	I	II	
Posición de la mama	Torácica	85,10%	10,60%	4,30%	100,00%
	Abdominal	90,40%	8,20%	1,40%	100,00%
	Inguinal	66,70%	16,70%	16,70%	100,00%
Total		84,00%	10,70%	5,30%	100,00%
Significación de la prueba de Razón de verosimilitudes, $p = 0.032$					

## 6. CONCLUSIONES

La creación de una base de datos ha permitido cumplir con los principales objetivos de este trabajo y permitirá seguir recopilando los datos obtenidos en las consultas de Oncología del HVUZ con el fin de obtener más datos significativos a largo plazo (tiempo de supervivencia, respuesta a tratamientos...)

En relación a los resultados estadísticos obtenidos hasta el momento, se comprueba que la gran mayoría de los propietarios desconocen la importancia de este tipo de neoplasias, no solo por acudir al veterinario tras meses de haber observado el tumor sino también por el hecho de no esterilizar a sus mascotas a edades tempranas, por lo que se plantea la posibilidad de realizar una campaña informativa de concienciación en base a ello.

En mi opinión, uno de los resultados más relevantes del estudio ha sido la correlación entre un mayor grado histológico de malignidad y la presencia de nódulos en las mamas inguinales, ya que en la bibliografía se describe que la prevalencia de nódulos en estas mamas es mayor con respecto a las otras, pero no se asocia el grado de malignidad.

### Conclusions

Creating a database has been possible to follow the main objectives of this work and allow to continue collecting data from the Oncology Service of the Veterinary Hospital of the University of Zaragoza in order to obtain more significant data.

Regarding the statistical results obtained, the majority of owners are unaware of the importance of this type of tumor, not only to go to the vet after months of having observed the tumor but also to sterilize their pets at an early age, so I propose the possibility to do an information campaign to raise awareness.

In my opinion, one of the most important results of the study has been the association between the histological grade of malignancy and the presence of nodules in the inguinal breasts; the bibliography describe the prevalence of nodules in these breast is higher than the others, but it doesn't associate the degree of malignancy.

## **7. VALORACIÓN PERSONAL**

Ha sido un enorme placer para mí llevar a cabo este proyecto. El hecho de realizarlo me ha permitido poder estar, o mejor dicho, disfrutar de las consultas de Oncología del Hospital Clínico Veterinario, profundizando con ello en los conocimientos acerca de las neoplasias estudiadas a lo largo de los cinco años de carrera, especialmente de los tumores de mama.

Además de ello, me ha permitido orientar mis expectativas de futuro al finalizar esta carrera, ya que he podido comprobar que la clínica de los pequeños animales es la salida profesional por la que desearía optar.

## **8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

1. Brodey RS, Goldschmidt MH, Roszel JR. Canine mammary gland neoplasms. J Am Animal Hosp Assoc. 1983; 19:61 – 90.
2. 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.

3. De Las Muelas JM, Millán Y, Dios R. A prospective analysis of immunohistochemically determined estrogen receptor alpha and progesterone receptor expression and host and tumor factors as predictors of disease-free period in mammary tumors of the dog. *Vet Pathol.* 2005 Mar; 42 (12):200-12
4. Dorn CR, Taylor DON, Schneider R, Hibbard HH, Klauber MR. Survey of animal neoplasm in Alameda and Contra Costa Counties, California II. Cancer morbidity in dogs and cats from Alameda County. *J Natl Cancer Inst.* 1968; 40:307-318.
5. Ettinger SJ, Fledman EC. Urogenital and Mammary gland tumors. En: *Textbook of Veterinary Internal Medicine Expert Consult.* 7<sup>th</sup> Edition. Saunders.2011.
6. Foss UM TW. Small animal surgery textbook. Elsevier, 2007.
7. Fowler EH, Wilson GP, Koester A. Biologic behavior of canine mammary neoplasms based on a histogenic classification. *Vet Pathol*, 1974;11:212-29.
8. Goldschmidt M, Peña L, Rasotto R, Zappulli V. Classification and grading of canine mammary tumors. *Vet Pathol.* 2011 Jan; 48(1):117-31.
9. 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.
10. Goldschmidt MH, Sorenmo KU, Rasotto R, Zappulli 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.
11. Guía de actuación en los tumores mamarios caninos. GEVONC- AVEPA. Clínica Veterinaria de Pequeños Animales, 2013. 33(2) 148-152.
12. Hellmén E, Holmberg L, Bergstrom R, et al. Prognostic factors in canine mammary gland tumors: a multivariate study of 202 consecutive cases. *Vet Pathol.* 1983; 30:20-27.
13. Klopffleisch R, Von Euler H, Sarli G, Pinho SS, Gärtner F, Gruber A. Molecular carcinogenesis of canine mammary tumors: new from an old disease. *Vet Pathology.* 2011;48(1):98-116
14. Kristiansen VM, Nodtvedt A, Breen AM, Langeland M, Teige J, Goldschmidt M, et al. Effect of ovariectomy at the time of tumor removal in dogs with benign mammary tumors and hyperplastic lesions: a randomized controlled clinical trial. *J Vet Intern Med.* 2013;27:935-42.
15. Kurzman ID, Gilberston SR. Prognostic factors in canine mammary tumors. *Semin Vet Med Surg.* 1986;1(1):25-32.

16. 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.
17. Misdorp W, Hartam AMM. Prognostic factors in canine mammary cancer. *J Natl Cancer Inst*. 1976;56:779-86
18. Moe L. Population- based incidence of mammary tumors in some dog breeds. *J Reprod Fertil Suppl*. 2001; 57: 439 – 443.
19. Nieto A, Peña L, Pérez Alenza MD, Sánchez MA, Flores JM, Castaño M. Immunohistologic detection of estrogen receptor alpha in canine mammary tumors: clinical and pathologic associations and prognostic significance. *Vet Pathol*. 2000 May; 37(3): 239-47.
20. Pas Itkas MN, Karayannopoulou M, Kaldrymidoy E, Tzegas SI, Tziris NE, Dimitriadis AS, Dess Iris AK. The lymph drainage of the neoplastic mammary glands in the bitch a lymphographic study. *Anat Histol Embriol*. 2006;35:228-34
21. 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.
22. Peña L, Pérez-Alenza MD. Avances en Oncología. Actualización en el diagnóstico y tratamiento de los tumores mamarios caninos. *Argos* 132. 2011 Oct
23. 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.
24. 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.
25. Raskin RE, Meyer DJ. Citología canina y felina, Atlas en color y guía de interpretación. E. Multimedia ediciones veterinarias, 2010; 12:291-305.
26. 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. Oral Communication. 2004.
27. Root MV. Determining the optimal age for gonadectomy of dogs and cats. *JAVMA*. 2007;231(11):1665-7.
28. 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.

29. 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.
30. 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.
31. 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.
32. 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.
33. Sorenmo KU, Worley DR, Goldschmidt, MH. Tumors of the mammary gland. En: Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology. Fifth ed. Elsevier. 2013. pp 538-556.
34. Stovring M, Moe L, Glattre. Apopulation based case – controled study of canine mammary tumors and clinical use of medroxyprogesterone acetate. *APMIS*. 1997; 105 (8):590-6.
35. Stratmann N, Failing K, Richter A et al. Mammary tumor recurrence in bitches after regional mastectomy. *Vet Surg*. 2008; 37(1):82-6.

## **9. AGRADECIMIENTOS**

En primer lugar, agradecer al personal de recepción del HVUZ por su colaboración para el acceso a los datos clínicos de los pacientes.

En segundo lugar, agradecimiento al Servicio de Biopsias de la Unidad de Histología y Anatomía Patológica del Departamento de Patología Animal de la Universidad de Zaragoza y en especial al Prof. Dr. D. Marcelo de las Heras por los informes de las biopsias de los animales incluidos en el estudio.

En tercer lugar, un enorme agradecimiento 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, así como en el análisis de los datos recopilados, ya que sin ello la finalidad de este trabajo no hubiera sido posible.

Finalmente, mi mayor y eterno agradecimiento es para la Dra. Carmen Aceña Fabián, por confiar en mí desde el primer momento y permitirme llevar a cabo este proyecto, por su apoyo incondicional, por sus consejos que tanto me han ayudado y por su labor docente a lo largo de este curso académico que ha hecho posible el presente trabajo.

## ANEXOS

Figura 1: Ficha clínica



**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

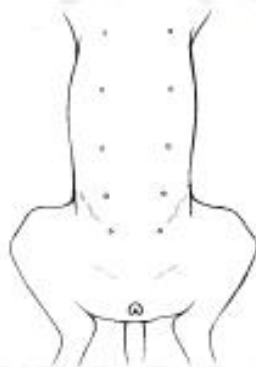
**Examen físico de la neoplasia:**

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**

Figura 2: Base de datos

Base de datos de tumores mamarios en pequeños animales				Nº de historial <input style="width: 100px;" type="text"/>	
Datos del animal					
Nombre <input style="width: 200px;" type="text"/>		Fecha de nacimiento <input style="width: 150px;" type="text"/>		Condición corporal: <input style="width: 50px;" type="text"/>	
Especie <input style="width: 50px;" type="text"/>		Aptitud <input style="width: 50px;" type="text"/>		Historial previo de neoplasias: <input style="width: 50px;" type="text"/>	
Raza <input style="width: 200px;" type="text"/>		Residencia <input style="width: 50px;" type="text"/>		Tipo de neoplasia: <input style="width: 200px;" type="text"/>	
Datos reproductivos					
Nº de ciclos estrales previos <input style="width: 50px;" type="text"/>		¿Ha presentado alguna lesión en ovario o útero? <input style="width: 50px;" type="text"/>			
Presentación de celos <input style="width: 100px;" type="text"/>		En caso afirmativo, indicar cuáles <input style="width: 250px;" type="text"/>			
Nº de partos <input style="width: 50px;" type="text"/>		¿Se le han administrado tratamientos hormonales? <input style="width: 50px;" type="text"/>			
Edad al primer parto (años) <input style="width: 50px;" type="text"/>		En caso afirmativo, indicar cuáles <input style="width: 250px;" type="text"/>			
¿Ha padecido alguna vez piometra? <input style="width: 50px;" type="text"/>		¿Se le ha practicado una ovariectomía (OHT)? <input style="width: 50px;" type="text"/>			
¿Ha experimentado pseudogestaciones? <input style="width: 50px;" type="text"/>		En caso afirmativo, indicar edad (años) a la que se realizó la OHT <input style="width: 50px;" type="text"/>			
Nódulos					
Fecha diagnóstico del tumor <input style="width: 150px;" type="text"/>		Tiempo de crecimiento <input style="width: 50px;" type="text"/>			
Localización <input style="width: 50px;" type="text"/>		Ulceración <input style="width: 50px;" type="text"/>		Tipo histológico <input style="width: 200px;" type="text"/>	
Tamaño <input style="width: 50px;" type="text"/>		Adherencias <input style="width: 50px;" type="text"/>		Grado Histológico <input style="width: 50px;" type="text"/>	
Registro: 1 de 1    Sin filtro <input style="width: 50px;" type="text"/> Buscar					
Tratamientos					
Estadio clínico <input style="width: 50px;" type="text"/>		Linfonodo inguinal <input style="width: 50px;" type="text"/>		Linfonodo axilar <input style="width: 50px;" type="text"/>	
Metástasis <input style="width: 50px;" type="text"/>					
Fecha cirugía <input style="width: 100px;" type="text"/>		Mama/nódulo extirpado <input style="width: 150px;" type="text"/>			
Quimioterapia adyuvante <input style="width: 150px;" type="text"/>		Fecha inicio <input style="width: 50px;" type="text"/>		Fecha fin <input style="width: 50px;" type="text"/>	
Quimioterapia metronómica adyuvante <input style="width: 150px;" type="text"/>		<input style="width: 50px;" type="text"/>		<input style="width: 50px;" type="text"/>	
Quimioterapia metronómica postadyuvante <input style="width: 150px;" type="text"/>		<input style="width: 50px;" type="text"/>		<input style="width: 50px;" type="text"/>	
Fecha último control (sano) <input style="width: 100px;" type="text"/>		Fecha recaída <input style="width: 100px;" type="text"/>		Fecha muerte <input style="width: 100px;" type="text"/>	
Registro: 1 de 1    Sin filtro <input style="width: 50px;" type="text"/> Buscar					
Observaciones <div style="border: 1px solid #ccc; height: 100px; width: 100%;"></div>					



Tabla 1: Goldschmidt M, Peña L, Rassotto R, Zapulli V. Classification and Grading of Canine Mammary Tumors. Vet Pathol.2011; 48-117<sup>8</sup>

18	Veterinary Pathology 48(1)
<b>Table 1. Histologic Classifications: 1974 and 1999</b>	
1974 HISTOLOGIC CLASSIFICATION <sup>7</sup>	1999 HISTOLOGIC CLASSIFICATION <sup>13</sup>
<ul style="list-style-type: none"> <li>I. Carcinoma <ul style="list-style-type: none"> <li>A. Adenocarcinoma <ul style="list-style-type: none"> <li>1. Tubular <ul style="list-style-type: none"> <li>(a) Simple type</li> <li>(b) Complex type</li> </ul> </li> <li>2. Papillary <ul style="list-style-type: none"> <li>(a) simple type</li> <li>(b) complex type</li> </ul> </li> <li>3. Papillary cystic <ul style="list-style-type: none"> <li>(a) simple type</li> <li>(b) complex type</li> </ul> </li> </ul> </li> <li>B. Solid carcinoma <ul style="list-style-type: none"> <li>(a) simple type</li> <li>(b) complex type</li> </ul> </li> <li>C. Spindle cell carcinoma <ul style="list-style-type: none"> <li>(a) simple type</li> <li>(b) complex type</li> </ul> </li> <li>D. Anaplastic carcinoma</li> <li>E. Squamous cell carcinoma</li> <li>F. Mucinous carcinoma</li> </ul> </li> <li>II. Sarcoma <ul style="list-style-type: none"> <li>A. Osteosarcoma</li> <li>B. Fibrosarcoma</li> <li>C. Combined sarcoma</li> <li>D. Other sarcomas</li> </ul> </li> <li>III. Carcinosarcoma (malignant mixed tumor)</li> <li>IV. Benign <ul style="list-style-type: none"> <li>A. Adenoma</li> <li>B. Papilloma <ul style="list-style-type: none"> <li>1. Duct papilloma</li> <li>2. Duct papillomatosis</li> </ul> </li> <li>C. Fibroadenoma <ul style="list-style-type: none"> <li>1. Pericanilicular</li> <li>2. Intracanalicular <ul style="list-style-type: none"> <li>(a) noncellular type</li> <li>(b) cellular type</li> </ul> </li> <li>3. Benign mixed tumor</li> <li>4. Total fibroadenomatous change</li> </ul> </li> <li>D. Benign soft tissue tumor</li> </ul> </li> <li>V. Unclassified Tumors</li> <li>VI. Dysplasias <ul style="list-style-type: none"> <li>A. Cyst <ul style="list-style-type: none"> <li>1. Nonpapillary</li> <li>2. Papillary</li> </ul> </li> <li>B. Adenosis</li> <li>C. Epitheliosis</li> <li>D. Duct ectasia</li> <li>E. Fibrosclerosis</li> <li>F. Gynecomastia</li> <li>G. Other nonneoplastic proliferative lesions <ul style="list-style-type: none"> <li>1. Noninflammatory lobular hyperplasia</li> <li>2. Inflammatory lobular hyperplasia</li> </ul> </li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>I Malignant tumors <ul style="list-style-type: none"> <li>1.1 Noninfiltrating (in situ) carcinoma</li> <li>1.2 Complex carcinoma</li> <li>1.3 Simple carcinoma <ul style="list-style-type: none"> <li>1.3.1 Tubulopapillary carcinoma</li> <li>1.3.2 Solid carcinoma</li> <li>1.3.3 Anaplastic carcinoma</li> </ul> </li> <li>1.4 Special type of carcinomas <ul style="list-style-type: none"> <li>1.4.1 Spindle cell carcinoma</li> <li>1.4.2 Squamous cell carcinoma</li> <li>1.4.3 Mucinous carcinoma</li> <li>1.4.4 Lipid-rich carcinoma</li> </ul> </li> <li>1.5 Sarcoma <ul style="list-style-type: none"> <li>1.5.1 Fibrosarcoma</li> <li>1.5.2 Osteosarcoma</li> <li>1.5.3 Other sarcomas</li> </ul> </li> <li>1.6 Carcinosarcoma</li> <li>1.7 Carcinoma or sarcoma in benign tumor</li> </ul> </li> <li>2 Benign tumors <ul style="list-style-type: none"> <li>2.1 Adenoma <ul style="list-style-type: none"> <li>2.1.1 Simple adenoma</li> <li>2.1.2 Complex adenoma</li> <li>2.1.3 Basaloid adenoma</li> </ul> </li> <li>2.2 Fibroadenoma <ul style="list-style-type: none"> <li>2.2.1 Low-cellularity fibroadenoma</li> <li>2.2.2 High-cellularity fibroadenoma</li> </ul> </li> <li>2.3 Benign mixed tumor</li> <li>2.4 Duct papilloma</li> </ul> </li> <li>3 Unclassified Tumors</li> <li>4 Mammary hyperplasia and dysplasia <ul style="list-style-type: none"> <li>4.1 Ductal hyperplasia</li> <li>4.2 Lobular hyperplasia <ul style="list-style-type: none"> <li>4.2.1 Epithelial hyperplasia</li> <li>4.2.2 Adenosis</li> </ul> </li> <li>4.3 Cysts</li> <li>4.4 Duct ectasia</li> <li>4.5 Focal fibrosis (fibrosclerosis)</li> <li>4.6 Gynecomastia</li> </ul> </li> </ul>