

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL  
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MÉDICO VETERINARIAS



Estudio retrospectivo histopatológico de tumores de glándula mamaria en perras  
de la Comarca Lagunera

POR:

**DALÍ LÓPEZ VENANCIO**

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

Torreón, Coahuila, México.

Mayo, 2022

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL  
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MÉDICO VETERINARIAS

Estudio retrospectivo histopatológico de tumores de glándula mamaria en perras de  
la Comarca Lagunera

Por:

**DALÍ LÓPEZ VENANCIO**

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

**MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

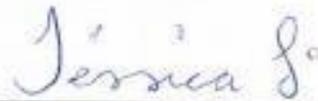
Aprobada por el Comité de Asesoría:



Dr. Ramón Alfredo Delgado González



M.V.Z. César Octavio Cruz Marmolejo  
Coasesor



Dra. Jessica María Flores Salas  
Coasesor



MC. José Luis Francisco Sandoval Elias  
Coordinador de la División Regional de Ciencia Animal



Torreón, Coahuila, México  
Mayo, 2022.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL  
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MÉDICO VETERINARIAS

Estudio retrospectivo histopatológico de tumores de glándula mamaria en perras de la comarca lagunera

Por:

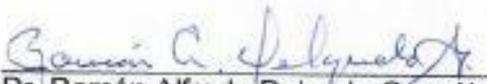
**DALÍ LÓPEZ VENANCIO**

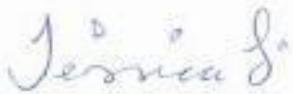
TESIS

Que se somete a la consideración del H. Jurado Examinador como requisito parcial para obtener el título de:

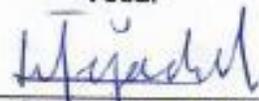
**MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

Aprobada por:

  
Dr. Ramón Alfredo Delgado González  
Presidente

  
Dra. Jessica María Flores Salas  
Vocal

  
M.V.Z. César Octavio Cruz Marmolejo  
Vocal

  
Dra. Luz María Tejada Ugarte  
Vocal Suplente

  
MC José Luis Francisco Sandoval Elias  
Coordinador de la División Regional de Ciencia Animal



Torreón, Coahuila, México  
Mayo, 2022.

## AGRADECIMIENTOS

A mis abuelos **Bertha Venancio y Emilio Isidoro** por la paciencia que han tenido conmigo y el apoyo incondicional que siempre me han mostrado.

A mis tíos **Jesús Isidoro y Arturo Isidoro** por sus consejos, siempre guiar mi camino, su ejemplo de ética y trabajo incansable.

A **mis amigos** que son mi familia e hicieron de esta una muy hermosa experiencia llena de aprendizaje y siempre me contagiaron de ese ímpetu de trabajo, de exigencia, perseverancia, fuerza y valentía que los han caracterizado siempre.

Al **Dr. Ramón Alfredo Delgado González** por tenerme paciencia, guiarme en esta tesis y en general en mis materias de patología.

A mis asesores **M.V.Z. César Octavio Cruz Marmolejo y Dra. Jessica María Flores Salas** por hacer que esta tesis tenga ya un buen final, por sus consejos y apoyo.

A la **M.V.Z Rosaura Ávila Fraire y la Lic. Wendy Salazar** por abrirme las puertas de su Clínica y así apoyarme para concluir esta tesis.

Al **Dr. Isaac Martínez** por su aporte, guía y apoyo al realizar esta tesis.

## DEDICATORIA

**A Lilian** mi hija que nos llegaste a cambiar por completo la vida, te amamos.

**A mis abuelos Bertha Venancio y Emilio Isidoro** que esto siempre será por ustedes.

**A mi familia** por abrirme las puertas al mundo, y darme la oportunidad de estar tan lejos de casa, pero tan cerca de lo que uno ama.

**A mi hermana** que está construyendo su camino paso a paso.

**A Abraham** por tus consejos, regaños y sobre todo apoyo incondicional, gracias.

## RESUMEN

Este estudio evaluó 93 casos de tumores de glándula mamaria registrados en el archivo de la Unidad de Diagnóstico de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Unidad Laguna. El objetivo fue determinar las características morfológicas con base en la frecuencia de los TMC del período 2019-2021. Los resultados obtenidos mostraron que las neoplasias malignas representaron el 80.6% de los casos remitidos, los más frecuentes fueron los Carcinomas Tubulares (11/75, 15%), los Carcinomas Papilares (10/75, 14%) y Tumor Mixto Maligno (19/74, 25%). El 19.4% de las neoplasias se clasificaron como benignas, siendo las más frecuentes las de origen epitelial, principalmente Adenoma Tubular (25%, 5/18).

Las razas puras mostraron mayor frecuencia de presentación de TMC. La distribución de los tumores por raza mostró una mayor frecuencia en las razas pequeñas (58.06%) encabezado por las razas Poodle y Chihuahua, 19 casos en ambas razas, seguido de las razas grandes; la raza dentro de este grupo con mayor presentación de TMC fue la Pitbull, esta raza ocupó el tercer lugar en cuanto a la frecuencia entre el total de TMC; En cuanto al rango de edad las perras entre 8 a 11 años de edad, fue el grupo que presentó más casos (30.07%), seguido del grupo de 4 a 7 años (29.03%).

**Palabras clave:** Tumor mamario canino; Tumores benignos; Tumores malignos; Caninos; Comarca Lagunera.

## INDICE

<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	<b>i</b>
<b>DEDICATORIA</b> .....	<b>ii</b>
<b>RESUMEN</b> .....	<b>iii</b>
<b>INDICE</b> .....	<b>iv</b>
<b>1.0 INTRODUCCION</b> .....	<b>1</b>
<b>2.0 ANTECEDENTES</b> .....	<b>3</b>
<b>2.1 Estructura de glándula mamaria</b> .....	<b>3</b>
<b>2.2 Indicadores pronósticos de los tumores mamarios</b> .....	<b>5</b>
<b>2.2.1 Grados de diferenciación</b> .....	<b>5</b>
<b>2.2.2. Clasificación morfológica de tumores mamarios</b> .....	<b>6</b>
<b>2.3. Factores de riesgo</b> .....	<b>7</b>
<b>2.3.1 Ovariectomía</b> .....	<b>7</b>
<b>2.3.3 Raza</b> .....	<b>8</b>
<b>2.3.4 Predisposición genética</b> .....	<b>8</b>
<b>2.3.5 Dieta y obesidad</b> .....	<b>9</b>
<b>2.3.6 Hormonas</b> .....	<b>9</b>
<b>2.4 Carcinogénesis</b> .....	<b>10</b>
<b>2.4.1 Estrógenos</b> .....	<b>10</b>
<b>2.4.2. Hormona de crecimiento</b> .....	<b>12</b>
<b>2.4.3 Cicloxigenasa-2 (COX-2)</b> .....	<b>12</b>
<b>3.0 JUSTIFICACIÓN</b> .....	<b>13</b>
<b>4.0 OBJETIVOS</b> .....	<b>13</b>
<b>5.0 MATERIALES Y METODOS</b> .....	<b>14</b>
<b>6.0 RESULTADOS</b> .....	<b>15</b>
<b>6.1 Frecuencia de TMC por año</b> .....	<b>15</b>
<b>6.2 Frecuencia de TMC de acuerdo a la raza</b> .....	<b>15</b>
<b>6.3 Frecuencia de TMC de acuerdo a la edad</b> .....	<b>16</b>
<b>6.4 Frecuencia de TMC de acuerdo a su origen tisular</b> .....	<b>17</b>
<b>6.5 Frecuencia de TMC de acuerdo a su clasificación morfológica</b> .....	<b>18</b>
<b>6.6 Frecuencia de TMC de acuerdo a su tamaño</b> .....	<b>19</b>
<b>7.0 DISCUSIÓN</b> .....	<b>20</b>
<b>8.0 CONCLUSIÓN</b> .....	<b>23</b>
<b>9.0 LITERATURA CITADA</b> .....	<b>24</b>

## INDICE DE FIGURAS

		<b>Página</b>
<b>Figura 1</b>	Corte histológico de glándula mamaria que muestra sus características morfológicas en sus distintas etapas; A, en reposo; B, durante la primera mitad de la gestación; C, durante la segunda mitad de la gestación; y D, durante la lactancia. (Adaptado de Goldschmidt y col., 2020).	13
<b>Figura 2</b>	Frecuencia de TMC remitidos a la Unidad de Diagnóstico en los años 2018-2021	18
<b>Figura 3</b>	Frecuencia de los TMC agrupados en tallas (chica, mediana y grande) de acuerdo con la raza (n= 93).	26
<b>Figura 4</b>	<b>A y B)</b> Frecuencia de TMC de acuerdo con la edad (P= <0.05).	27
<b>Figura 5</b>	<b>A)</b> Frecuencia de TMC con características benignas (n=18). <b>B)</b> Frecuencia de TMC con características malignas (n=75), (P=<0.05).	28
<b>Figura 6</b>	Frecuencia de TMC de acuerdo con sus características histológicas NB y NM (P= < 0.05). AS: Adenoma simple; AC: Adenoma complejo; AT: Adenoma tubular; FA: Fibroadenoma; HM: Hemangioma; MIO: Mioepitelioma; TMB: Tumor mixto benigno; FS Fibrosarcoma; CT: Carcinoma tubular; CTP: Carcinoma tubulo papilar; CQ: Carcinoma quístico; CA: Carcinoma Anaplásico; CCIB: Carcinoma Cibrinoide; CMPL: Carcinoma complejo; CCE: Carcinoma de Células escamosas; CLR: Carcinoma rico en lípidos; CP: Carcinoma papilar; CS: Carcinoma Sólido, CCOMA: Comedocarcinoma; TMM: Tumor mixto	29

	maligno; OST: Osteosarcoma; SC: Sarcoma	
--	--	--

## INDICE DE CUADROS

		<b>Página</b>
<b>Cuadro 1</b>	Gradificación histológica de las neoplasias mamarias basadas en sus características histológicas (Tomado de Peña y col., 2012).	15
<b>Cuadro 2</b>	Clasificación descrita por Goldschmidt y col., 2011	16

## 1.0 INTRODUCCION

La oncología (*griego oncos = tumor*) es la rama de la medicina que estudia los tumores o neoplasias, poniendo atención a los tumores malignos también llamados cáncer (Kumar y col, 2018). Las neoplasias mamarias son comunes en perros, principalmente en hembras intactas y raras veces en machos. (Goldschmidt y col., 2020). En la perra, la tasa de incidencia varía con la ubicación geográfica y está directamente relacionada a la ovariectomía y la edad a la que se realiza. En países donde la ovariectomía se realiza con poca frecuencia, las neoplasias mamarias son extremadamente comunes y pueden representar del 50 al 70% de todas las neoplasias en perras intactas. Sin embargo, hay muchos otros factores que influyen en la incidencia, incluida la popularidad de la raza, la cría, y factores socioeconómicos (Goldschmidt y col., 2020).

Todos los tumores, benignos y malignos, tienen dos componentes básicos: (1) el parénquima, formado por células transformadas o neoplásicas y (2) el estroma no neoplásico, derivado del huésped, formado por tejido conectivo de sostén, vasos sanguíneos y células inflamatorias. El parénquima de la neoplasia determina en gran medida su comportamiento biológico y es este componente del cual el tumor deriva su nombre. El estroma es crucial para el crecimiento de la neoplasia, ya que transporta el suministro de sangre y proporciona apoyo para el crecimiento del parénquima. (Kumar y col, 2018).

La histopatología sigue siendo la piedra angular para el diagnóstico del tumor mamario canino (TMC). Se puede realizar una clasificación según el tejido de origen (tejido epitelial, mioepitelial o mesenquimal), características morfológicas descriptivas y pronóstico (Sorenmo, 2003).

En 1974, se publicó la primera "Clasificación Histológica Internacional de Tumores de animales domésticos " que incluía tumores y displasias de la glándula mamaria y una modificación en 1999 (Canadas y col., 2019). Más adelante se ha presentado

un esquema alternativo de clasificación histológica para TMC, reconocido como la clasificación de 2011, que enfatiza las disposiciones arquitectónicas de las células neoplásicas y la participación de las células mioepiteliales en el proceso neoplásico (Goldschmidt y col, 2011).

Un tumor es benigno cuando su apariencia macroscópica y microscópica se considera relativamente inocente, permanece localizado, no se disemina a otros sitios y se puede extirpar quirúrgicamente, estos se designan añadiendo el sufijo *-oma* al nombre del tipo de célula a partir del cual se origina el tumor. En el caso del tumor maligno o cáncer, estos pueden invadir, destruir estructuras adyacentes, diseminarse a sitios distantes y pueden causar la muerte. Los tumores malignos de origen epitelial se denominan carcinomas y los mesenquimales sarcomas (Kumar y col. 2017).

## 2.0 ANTECEDENTES

### 2.1 Estructura de glándula mamaria

Las glándulas mamarias son glándulas sudoríparas modificadas que secretan leche, normalmente son 10 dispuestas en 2 series que se extienden desde la parte caudal de la región pectoral, hasta la región inguinal y se designan según su localización como cuatro torácicas, cuatro abdominales y dos inguinales. Los pezones son cortos y sus vértices presentan de 6 a 12 orificios pequeños llamados conductos excretores (Sisson y col., 1996). Cada glándula es túbulo alveolar compuesto, que consta de unidades secretoras agrupadas en lóbulos definidos por tabiques intermedios de tejido conjuntivo

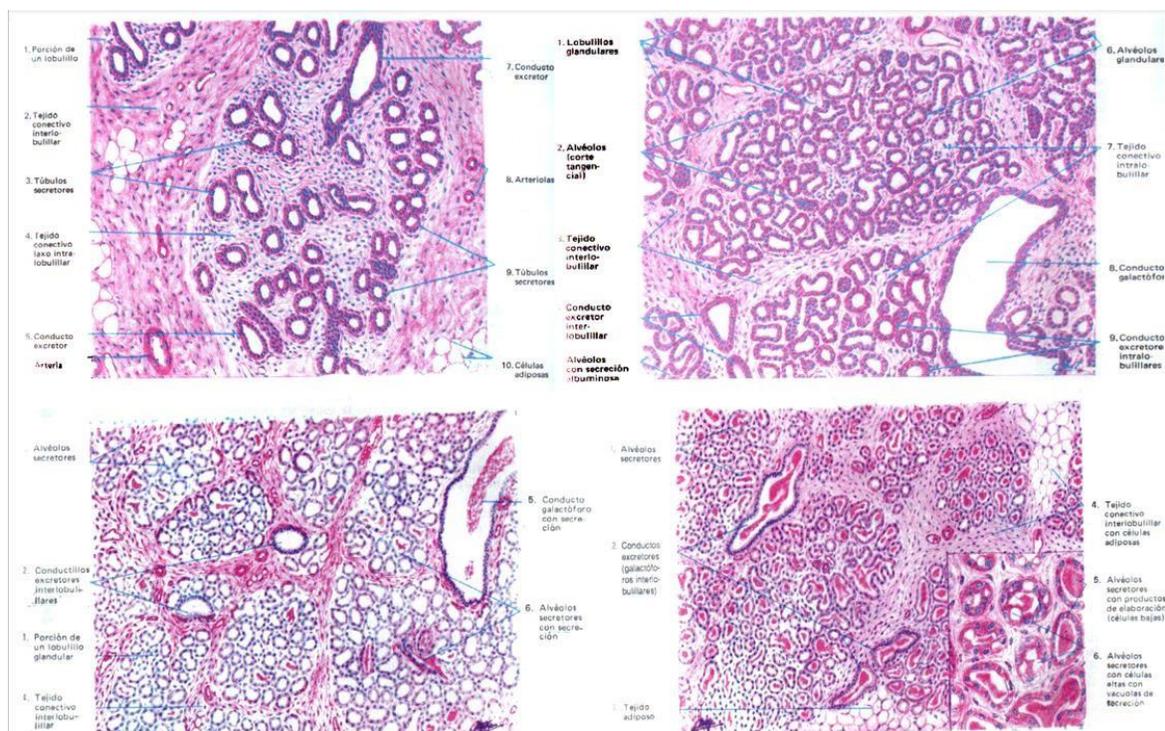
Cada glándula está encerrada en una cápsula fibroelástica muscular que se extiende hasta la sustancia de la glándula y la divide en lóbulos y lobulillos. El tejido glandular está dispuesto en lóbulos con unos 200 alvéolos. La leche se drena a un conducto intralobulillar que se une a otros para formar un conducto interlobulillar más grande. Los conductos interlobulillares conducen a su vez a un sistema de conductos lactíferos, que finalmente conducen la leche a la cavidad relativamente grande conocida como seno lactífero (Dyce, 2012).

La glándula mamaria anterior del perro está irrigada por las ramas craneales de la arteria torácica interna y las arterias intercostales. Los siguientes dos pares se irrigan por las ramas mamarias de la arteria epigástrica superficial craneal y los dos últimos pares por las ramas mamarias de la arteria epigástrica superficial caudal y la arteria abdominal craneal y por ramas de la arteria pudendo externa. Las venas son paralelas y drenan sangre de la porción caudal en la vena pudendo externa, y la vena epigástrica superficial craneal (Goldschmidt y col., 2020)

El drenaje linfático de cada glándula del mismo lado puede interconectarse, sin embargo, el drenaje puede verse alterado cuando se producen neoplasias mamarias en las glándulas. Cada glándula mamaria tiene su propio plexo linfático

que anastomosa y rodea la base del pezón, extendiéndose hacia el parénquima con los otros plexos. Las interconexiones ipsilaterales comunes en los perros afectan la glándula abdominal caudal que drena hacia el plexo linfático de la glándula inguinal (Goldschmidt y col., 2020)

En la glándula mamaria inactiva (Figura 1), los lóbulos de tejido glandular y conductos están rodeados por tejido subcutáneo fibroelástico. La piel suprayacente contiene algunos folículos pilosos (Zachary James, 2017).



**Figura 1.** Corte histológico de glándula mamaria que muestra sus características morfológicas en sus distintas etapas; A, en reposo; B, durante la primera mitad de la gestación; C, durante la segunda mitad de la gestación; y D, durante la lactancia. (Adaptado de Goldschmidt y col., 2020).

En la glándula mamaria activa muchas células secretoras tienen núcleos desplazados basalmente y bordes celulares laterales indistintos. Estas células aparecen pálidas porque se han extraído sus lípidos citoplasmáticos. Las células desprendidas, cuyos núcleos oscuros son visibles en los lúmenes, son parte del producto secretor. Algunos de los núcleos planos que rodean los alvéolos

pertencen a células mioepiteliales. La porción del pezón muestra numerosos senos entre haces entremezclados de músculo liso y tejido conectivo fibroelástico (Zachary James, 2017).

## 2.2 Indicadores pronósticos de los tumores mamarios.

### 2.2.1 Grados de diferenciación

Los sistemas de gradificación actuales tanto el de Misdorp como el de Peña son de valor predictivo sobre el riesgo de invasión de los vasos linfáticos y metástasis en los ganglios linfáticos regionales en el momento del diagnóstico. Sin embargo, se ha demostrado que el sistema Peña tiene una mejor capacidad predictiva (Peña y col., 2012).

**Cuadro 1.** Gradificación histológica de las neoplasias mamarias basadas en sus características histológicas (Tomado de Peña y col., 2012).

<b>Grado</b>	<b>Formación de túbulos</b>	<b>Pleomorfismo nuclear</b>	<b>Mitosis en 10 campos/HPF</b>
<b>1</b>	> 75%	Núcleo pequeño uniforme o regular y nucléolo ocasional	0-9
<b>2</b>	Moderada formación de túbulos (10-75%)	Grado moderado de variación nuclear en tamaño y forma, núcleo hipercromático y presencia de nucléolo	10-19
<b>3</b>	Mínima o ausencia de formación (<10%)	Marcada variación en los tamaños de los núcleos, son hipercromáticos con 1 o más nucléolos prominentes	>20

El grado histológico es un factor pronóstico importante tal como el que propone Peña y col., en 2012 (Cuadro 1) según sus características histológicas se realiza un conteo del puntaje posteriormente se realiza una sumatoria donde se coloca en grado 1 si obtuvo de 3 a 5 puntos, grado 2 si fue de 6-7 puntos y grado 3 si obtuvo de 8 a 9 puntos.

Un estudio indica que el tiempo medio de supervivencia para tumores mamarios de grado I es de más de 37 meses, de grado II es de 32 meses y de grado III de 18

meses. La tasa de supervivencia media de 2 años en los grados I, II y III es del 100%, del 80% y del 30%, respectivamente. El riesgo de recurrencia/metástasis y de mortalidad asociada con el tumor, varía entre el 3,4 % para el grado I, 15.8% para el II y un 58.8% para el grado III (Peña y col, 2013).

## 2.2.2. Clasificación morfológica de tumores mamarios

**Cuadro 2:** Clasificación morfológica de tumores mamarios descrita por Goldschmidt y col., 2011.

<i>Clasificación histológica propuesta: 2011</i>	
<p><b>1: Neoplasias epiteliales malignas</b>            Carcinoma in situ            Carcinoma simple                a) Tubular                b) Tubulopapilar                c) Quístico-papilar                d) Cribiforme            Carcinoma micropapilar invasivo            Carcinoma sólido            Comedocarcinoma            Carcinoma anaplásico            Carcinoma que surge en un adenoma complejo / tumor mixto</p> <p>Carcinoma de tipo complejo            Carcinoma y mioepitelioma maligno            Carcinoma de tipo mixto            Carcinoma ductal            Carcinoma papilar intraductal</p> <p><b>2: Neoplasias epiteliales malignas: tipos especiales</b>            Carcinoma de células escamosas            Carcinoma adenoescamoso            Carcinoma mucinoso            Carcinoma rico en lípidos (secretor)            Carcinomas de células fusiformes            Mioepitelioma maligno            Carcinoma de células escamosas            Variante de carcinoma-células fusiformes            Carcinoma inflamatorio</p>	<p><b>3: Neoplasias mesenquimatosas malignas:</b> sarcomas            Osteosarcoma            Condrosarcoma            Fibrosarcoma            Hemangiosarcoma            Otros sarcomas</p> <p><b>4: Carcinosarcoma: tumor mamario mixto maligno</b></p> <p><b>5: Neoplasias benignas</b>            Adenoma: simple            Adenoma papilar intraductal            Adenoma ductal</p> <p><b>6: Hiperplasia / Displasia</b>            Ectasia del conducto            Hiperplasia lobulillar (adenosis)            Epiteliosis            Papilomatosis            Cambio fibroadenomatoso            Ginecomastia</p> <p><b>7: Neoplasias del pezón</b>            Adenoma            Carcinoma            Carcinoma con infiltración epidérmica</p> <p><b>8: Hiperplasia / displasia del pezón</b>            Melanosis de la piel del pezón.</p>

En esta clasificación tiene como diferencia que se incluyen entidades específicas tales como carcinoma simple cibriforme y comedocarcinoma donde anteriormente se entraban dentro de la clasificación de carcinoma in situ así mismo hay algunos que se colocan en una entidad independiente de su variante benigna tales como fue el caso del carcinoma ductal anteriormente llamado adenoma basaloide y carcinoma papilar intraductal. (Goldschmidt y col., 2011).

### **2.2.3 Criterios de malignidad**

Además del tipo histológico y el grado de diferenciación, otros indicadores pronósticos de los tumores mamarios caninos incluyen: presencia de áreas de necrosis, tamaño y volumen del tumor, metástasis, unión a estructuras subyacentes, úlceras, positividad del receptor de estrógeno (los tumores mamarios malignos tienden a ser receptores de estrógeno negativos) ploidía del ADN (tumores aneuploides portan un peor pronóstico), cuantificación de las regiones organizadoras nucleolares argirofílicas (AgNOR por sus siglas en inglés) cabe recalcar que la cuantificación alta de AgNOR conlleva un peor pronóstico (Morris y Dobson, 2001; Goldschmidt y col., 2011).

## **2.3. Factores de riesgo**

### **2.3.1 Ovariectomía**

En perras ovariectomizadas antes de su primer ciclo de celo, el riesgo de desarrollar una neoplasia mamaria disminuyó en un 99,5%. Y el riesgo disminuyó en un 92% y 74% si la ovariectomía se realizó antes del segundo y tercer ciclo de celo, respectivamente. No hubo beneficios estadísticamente significativos si la ovariectomía ocurrió después del tercer ciclo (Goldschmidt y col., 2020). En un estudio realizado en la ciudad de México refieren que la mayoría de las perras con tumores mamarios fueron nulíparas; sin embargo, esta condición no tuvo ningún riesgo significativo para el desarrollo de tumores mamarios (Salas y col., 2015).

### **2.3.2 Edad**

Se presentaron neoplasias benignas en perros más jóvenes (promedio de 7 a 9 años) mientras que ocurrieron neoplasias malignas en perros de edad media o avanzada (media de 9 a 11 años) (Sorenmo, 2009). Las hembras adultas (de 9 a 12 años) fueron las más afectadas, seguidas de las hembras de 5 a 8 años (Salas y col., 2015). Sin embargo, hay autores que describen un rango más amplio entre los 4 y 15 años (Sassi y col, 2010).

### **2.3.3 Raza**

En general, se encontró que los perros de razas puras estaban significativamente sobrerrepresentados entre los casos de TMC (Tumores Mamarios Caninos) (Schneider 1970; Dorn y Schneider 1976). Algunas razas, p. Ej. Caniches, Springer Spaniels ingleses, Brittany Spaniels, Cocker Spaniels, Pastores alemanes, Maltés, Yorkshire Terriers y Dachshunds, parecen tener un mayor riesgo de desarrollar un tumor mamario. (Salas y col., 2011; Sleenckx y col., 2011) y tienden a ocurrir más comúnmente en razas puras pequeñas (Keum-Soon y col, 2013) Sin embargo, en un estudio realizado en México las razas puras representaron el 80% de las presentaciones, y el caniche, el Cocker Spaniel y el pastor alemán fueron las razas más afectadas (Salas, 2015). Otros autores aseguran que no existe predisposición racial, ni diferencias entre las razas puras y las mestizas, y que los resultados dispares de las estadísticas se justifican por las preferencias de los propietarios hacia ciertas razas, condicionadas por factores tan difíciles de evaluar como diferencias geográficas, gustos y status socio-económico (Flores, 1996; Torres y col., 2008).

### **2.3.4 Predisposición genética**

A pesar de lo descrito no se ha identificado una mutación genética común en perros con TMC. Identificaron familias de Beagle con susceptibilidad familiar o resistencia a la aparición de TMC. Esto no dio como resultado proporciones diferentes de tipos de tumores mamarios histológicos, sino que se reflejó en la edad de aparición del tumor (Schafer y col., 1998; Sleenckx y col., 2011). Lo que se ha podido establecer

es que muchos de los animales con tumor mamario presentan expresión disminuida del gen supresor de la proliferación celular p53 y sobre expresión de genes protooncogenes como el c-erB2 y c-myc que estimulan la proliferación celular incontrolada. Estudios de citogenética han permitido establecer que la anormalidad cromosómica más frecuente en caninos con tumor mamario es la aneuploidía (62%) (Chung-Ho Lee y col., 2003; Vidales y col., 2007; Wake y col., 2002 Van Leeuwen y col., 1996; Schafer y col., 1998; Meuten, 2002; Sorenmo, 2003).

### **2.3.5 Dieta y obesidad**

Los perros alimentados con una dieta rica en carnes rojas y que eran obesos al año, tuvieron un mayor riesgo de desarrollar neoplasias mamarias y que los perros que eran delgados entre los 9 y 12 meses de edad tenían un menor riesgo de desarrollar neoplasias mamarias (Sonnenschein, 1991).

La obesidad se asocia con un mayor riesgo de cáncer de mama en mujeres posmenopáusicas. Esto puede deberse a varios factores, como la hiperinsulinemia, el aumento de los niveles de IGF-I y la disminución de los niveles séricos de globulina transportadora de hormonas sexuales (SHBG), lo que provoca un aumento de los niveles séricos de estrógenos libres y, posteriormente, un aumento del riesgo de cáncer de mama (Sorenmo, 2003). En un estudio realizado por Salas y col., (2016), un grupo de mujeres fueron sometidas a cirugía para remoción de tumor mamario de las cuales el 73.9% tenían condición corporal de 4 con tendencia a presentar tumores malignos, aunque estadísticamente no fue significativo.

### **2.3.6 Hormonas**

Las hormonas exógenas, tanto progestágenos como estrógenos, aumentan el riesgo de desarrollo de tumores mamarios en perros. Dosis bajas de progestinas promueven el desarrollo de neoplasias benignas, mientras que una combinación de progestinas y estrógenos parece inducir el desarrollo de neoplasias malignas (Goldschmidt y col., 2020).

## 2.4 Carcinogénesis

Se dice que las células neoplásicas se transforman porque continúan replicándose, aparentemente ajenas a las influencias reguladoras que controlan las células normales. Sin embargo, su autonomía no es completa. Todas las neoplasias dependen del huésped para su nutrición y suministro de sangre. Las neoplasias derivadas de tejidos que responden a hormonas a menudo también requieren apoyo endocrino (Kumar, 2018).

### 2.4.1 Estrógenos

La estimulación de receptores para estradiol (E2) o diferencias en los niveles de expresión, puede contribuir al desarrollo y comportamiento clínico de las neoplasias mamarias en perras. Aunque hay conflictos en la literatura, los tumores benignos y los tumores malignos de bajo grado son considerados ER $\alpha$ -positivos (Receptores para estrógenos alfa, positivos), mientras que los malignos de alto grado, tienden a ser ER $\alpha$ -negativos (Salas y Romero, 2011).

Los mecanismos de iniciación carcinogénica asociados con E2 incluyen la generación de metabolitos con capacidad genotóxica derivada de su metabolismo oxidativo. El estímulo E2 retarda la proliferación celular, aumentando la posibilidad de aparición de errores genéticos y potenciar la proliferación de clones de células portadoras de mutaciones potencialmente oncogénicas. estudios en ratones han demostrado que los metabolitos hidroxilados del anillo A de E2 (2 y 4 catecol-E2 y derivados) pueden ser cancerígenos en varios tejidos, incluyendo la glándula mamaria (Yager y col., 2006).

Uno de los principales mecanismos no genómicos descritos por el cual E2 favorece la progresión de los tumores mamarios en humanos ER (receptor de estrógenos) positivos (Levin y col., 2003; Torres y col., 2008) y en caninos las células tumorales mamarias es la activación de las metaloproteinasas de la matriz (MMP) 2 y 9 en respuesta a 2 nM de la hormona E2. Su activación, mediada por subunidades  $\alpha$  de

receptores acoplados a proteína G y Src, escinde y libera Factor de Crecimiento Epidermal de Unión a Heparina HB-EGF, un factor capaz de unirse y activar el Receptor del Factor de Crecimiento Epidermal Dos (EGFR-2) residente en la membrana plasmática. En consecuencia, un aumento dependiente del tiempo en las quinasas de respuesta extracelular (por ejemplo, la cinasa ERK), induce la fosforilación (P), desencadenando una mayor actividad proliferativa. Así como la activación de EGFR regula positivamente la síntesis y secreción de diferentes factores de crecimiento angiogénicos como el factor de crecimiento del Endotelio Vascular (VEGF), interleucina 8 (IL-8) y factor básico de crecimiento de fibroblastos (bFGF) (Jorissen y col., 2003)

Además, la presencia de ER $\alpha$  a nivel mitocondrial se ha descrito en tumores mamarios y en células endoteliales, donde su activación inhibe tanto la liberación del citocromo C inducido por la radiación UV y el potencial de membrana mitocondrial, eventos que están directamente relacionados con la vía intrínseca de la apoptosis. Además, E2 inhibe la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS) en las mitocondrias a través de una rápida activación del superóxido dismutasa (SOD). De esta forma, el esteroide favorece la supervivencia de células tumorales. (Pedram y col., 2006; Levin y col., 2016; Torres y col., 2021).

E2 parece inducir un efecto protector en perros reproductivamente intactos con tumores ER $\alpha$ -negativos, donde los niveles altos de E2 se asocian con un tiempo más largo para la metástasis. En este caso, E2 puede desencadenar este efecto independientemente de su receptor a través de otros receptores, donde E2 es el ligando, como el receptor transmembrana acoplado a proteína G 30 (GPR30) o ER truncado, hipótesis que debe ser probada (Carmeci y col., 1997; Arias-Pulido y col., 20120; Torres y col., 2021).

En la glándula mamaria, la síntesis local de estrógenos es realizada por enzimas esteroideogénicas como CYP19-Aromatasa, 17- $\beta$ -hidroxiesteroide deshidrogenasa tipo I (17 HSD1) y esteroide sulfatasa (STS), cuya expresión ha sido documentada

en CMTs, aunque, sin importancia pronóstica. La producción de esteroides locales se correlaciona positivamente con la secreción de EGF, lo que sugiere que E2 y la los factores de crecimiento están interactuando dentro del microambiente mamario. La mayor producción de esteroides se produce en los tumores malignos, incluidos los carcinomas mamarios inflamatorios, donde esta síntesis tiende a ser incluso mayor. Estas hormonas incluyen estrógenos como 17 -E2 y sulfato de estrona, y andrógenos como androstenediona, dehidroepiandrosterona y testosterona y su producción local (Torres y col., 2021)

#### **2.4.2. Hormona de crecimiento**

La GH tiene efectos estimulantes del crecimiento directo sobre el tejido mamario, pero también tiene efectos indirectos a través del factor de crecimiento similar a la insulina I (IGF-I). Los factores de crecimiento de la insulina juegan un papel crucial tanto en la proliferación celular normal como en la transformación maligna. Se ha demostrado que el IGF-I está implicado en la tumorigénesis en muchos tipos de tumores, incluidos los derivados de las glándulas mamarias (Khandwala y col. 2000; Zumkeller, 2001).

#### **2.4.3 Cicloxigenasa-2 (COX-2)**

Cox2 (inducible) puede ser inducida por hipoxia, factores de crecimiento, estímulos inflamatorios y varios oncogenes; interviene en el metabolismo del ácido araquidónico que genera prostaglandinas, las cuales mediante varios mecanismos pueden inducir en los tumores malignos la resistencia a la apoptosis, la proliferación, el incremento de la angiogénesis, la invasión y la inmunosupresión. (Demaria y col., 2010; Salas y col., 2011).

### **3.0 JUSTIFICACIÓN**

De acuerdo con los antecedentes descritos y considerando que las estadísticas de tumores de glándula mamaria se han reportado en diferentes regiones del país y del extranjero, y que estos estudios no se encuentran en la Comarca Lagunera, el presente trabajo tiene como propósito clasificar los tumores de glándula mamaria encontrados en caninos hembras, la raza y edad de los animales afectados, con los siguientes objetivos:

### **4.0 OBJETIVOS**

#### **4.1. Objetivo General:**

4.1.1 Realizar la recopilación de casos de tumores de glándula mamaria en perras del archivo de la Unidad de Diagnóstico de la UAAAN, U.L., a partir del año 2018 al 2021.

#### **4.2. Objetivos Específicos:**

4.2.1. Identificar parámetros de la raza, tamaño, incidencia anual, edad y tipo de tumores que afectan a las perras de la Comarca Lagunera.

4.2.2 Valorar las características histológicas de los casos de tumores mamarios obtenidos del archivo de la Unidad de Diagnóstico, para clasificarlos de acuerdo con la clasificación de Goldschmidt y col. (2011).

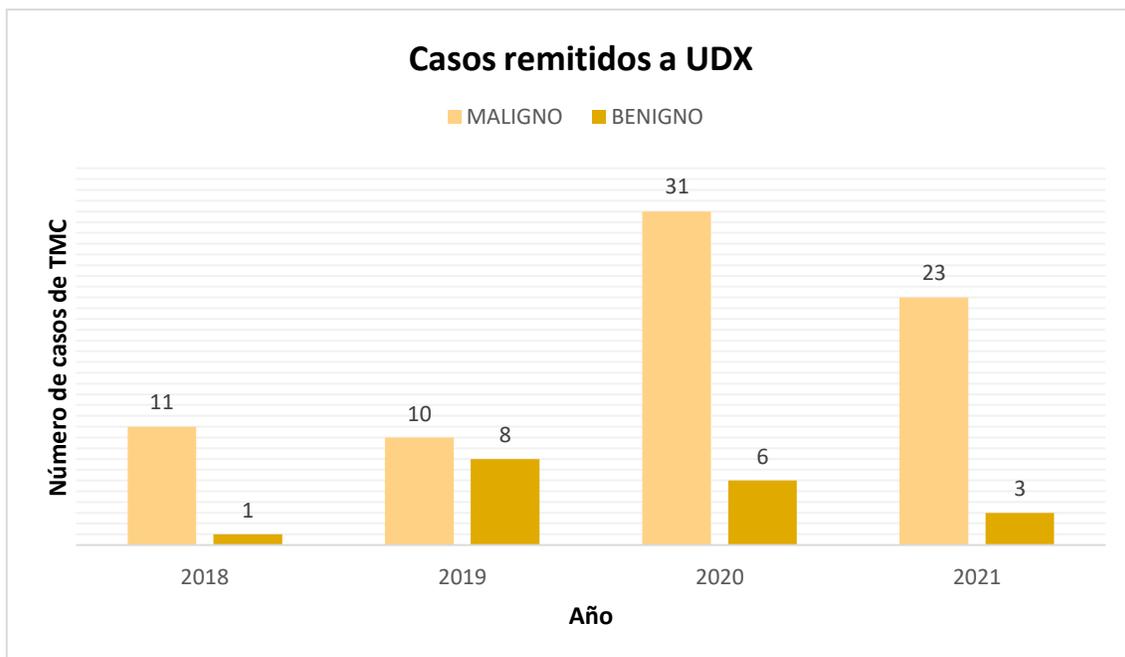
## 5.0 MATERIALES Y METODOS

Se realizó un estudio retrospectivo de caninos de los casos diagnosticados mediante biopsias de glándula mamaria en la Unidad de Diagnóstico de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Unidad Laguna, durante los años 2018-2021. Los datos se agruparon de acuerdo con su respectiva identificación, datos del animal, así como la historia clínica. Las muestras fueron procesadas por el método convencional de inclusión en parafina, considerando la fijación, en formol al 10% amortiguado con fosfatos, seleccionando las zonas más significativas de los tumores y se realizaron cortes de 3 a 5 mm de espesor, posteriormente se introdujeron en una cápsula de plástico y se deshidrataron mediante una serie de alcoholes de gradación creciente (50°C, 70°C, 80°C, 95°C y alcohol absoluto), con aclarado en xilol en un procesador automático de tejidos (American Optical T/P 8000, Tissue Processor) durante 12 horas para después ser incluidas en parafina líquida. Se colocaron en superficie a 4 °C, se solidificaron y se procedió al corte con el microtomo (Leika RM2125 RTS), obteniendo preparaciones con un espesor de 5µm. Posteriormente se tiñeron con hematoxilina y eosina y se observaron en el microscopio óptico para su diagnóstico histopatológico. Las neoplasias fueron clasificadas por el sistema establecido por Goldschmidt y col. (2011). Finalmente, se realizó un análisis estadístico descriptivo.

## 6.0 RESULTADOS

### 6.1 Frecuencia de TMC por año

Se revisaron los archivos de la Unidad de Diagnóstico del 2018 al 2021, tomando en consideración el número total de muestras de caninos remitidos para el estudio histopatológico de tumores. De un total de 1200 casos, se encontraron registrados 93 (7.75%) tumores de glándula mamaria. Se encontró un porcentaje de 80.65% (75/93) de tumores malignos, 19.35% (18/93) de tumores benignos, observándose una mayor frecuencia de tumores malignos en 2020 (33.33%, 31/93), seguido por el 2021 (24.73%, 23/93) y benignos en el año 2020 (12.9%, 12/93) seguido del 2021 (4.3%, 4/93).

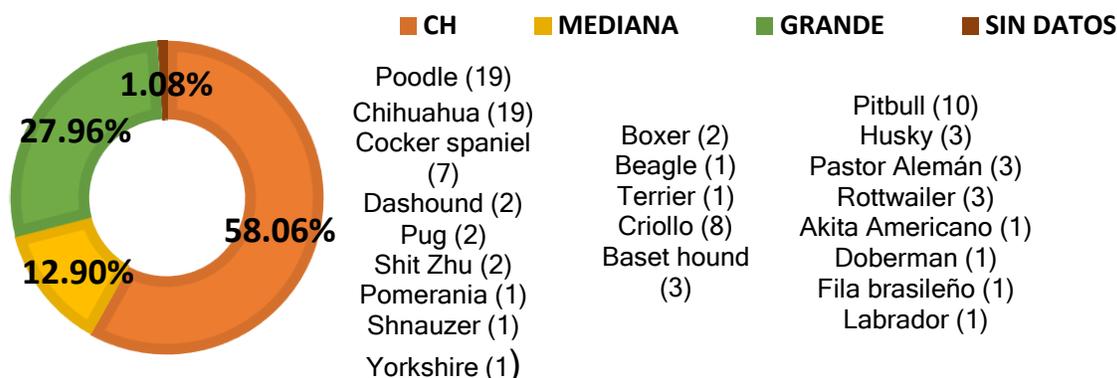


**Figura 2:** Frecuencia de TMC remitidos a la Unidad de Diagnóstico entre los años 2018-2021

### 6.2 Frecuencia de TMC de acuerdo a la raza

Las razas se agruparon por talla (chica, mediana, grande) observándose una mayor frecuencia de TMC en razas pequeñas.

### FRECUENCIA DE TMC SEGÚN LA RAZA Y TALLA.



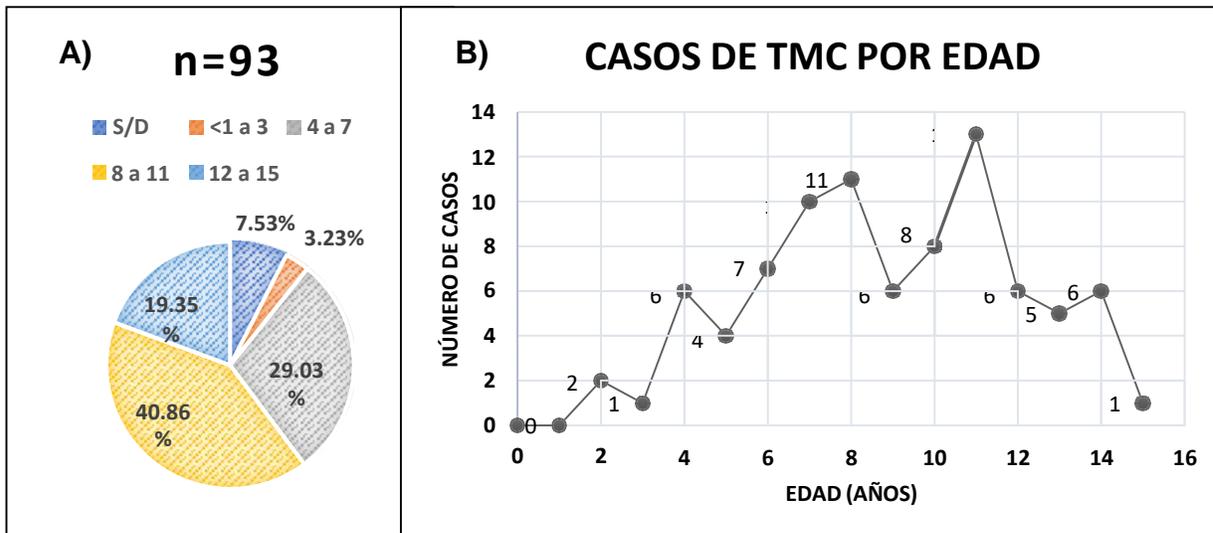
**Figura 3:** Frecuencia de los TMC agrupados en tallas (chica, mediana y grande) de acuerdo con la raza (n= 93).

En la figura 3 se aprecia que la categoría predominante correspondió a hembras de raza chica (58,06%), destacando la Poodle y la raza chihuahua con una frecuencia de n = 19 cada una. Las razas medianas representaron el 12.90% e incluyeron las razas criollas.

Es importante resaltar que la frecuencia de TMC según la raza mostró un mayor porcentaje entre aquellos animales de razas puras en comparación con animales de raza criolla (91.4% frente a 8.6%, respectivamente). Finalmente, las hembras de talla grande ocuparon el segundo lugar en frecuencia (27.96%). La principal raza dentro de este grupo fue la Pitbull, siendo el tercer lugar en frecuencia entre el total de TMC; 92.

### 6.3 Frecuencia de TMC de acuerdo a la edad

La población se dividió en cinco grupos etarios (Figura 4-A). Los animales adultos (8 a 11 años) mostraron la mayor frecuencia de TMC (38/86), seguida por el grupo de 4 a 7 años (27/86). Entre ambos grupos incluyeron el 70% de los casos.

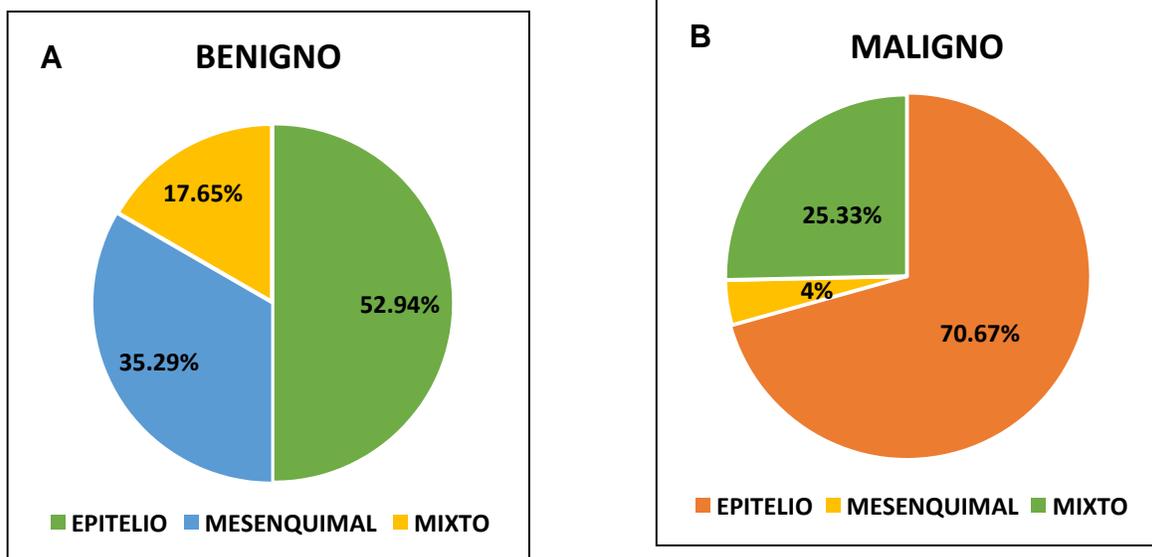


**Figura 4: A y B) Frecuencia de TMC de acuerdo con la edad**

Se observó una frecuencia de edad de perras con TMC (Figura 4-B), mayores a los 11 (13/86), a los 8 (11/86) y a los 7 años (10/86). En perras mayores a 12 años no se registró alta frecuencia, en general las perras adultas mayores a 7 años fueron las más afectadas.

#### 6.4 Frecuencia de TMC de acuerdo a su origen tisular

Las neoplasias mamarias de origen epitelial como se observa en la figura 5-A y 5-B presentaron el mayor número de casos, de manera consistente, incluyendo malignas y benignas. Las neoplasias benignas (NB) estuvieron representadas mayoritariamente por lesiones mamarias de origen epitelial (52.94%) y con menor frecuencia por tipo mixto, sin embargo, en Neoplasias Malignas (NM) las de tipo mixto ocuparon el 25.33% de incidencia. Las lesiones de origen mesenquimatoso se vieron con mayor frecuencia en NB a comparación con NM que fueron las menos frecuentes. Los tumores epiteliales ocurrieron en el 70.67% de las lesiones malignas (Figura 9 A-B)

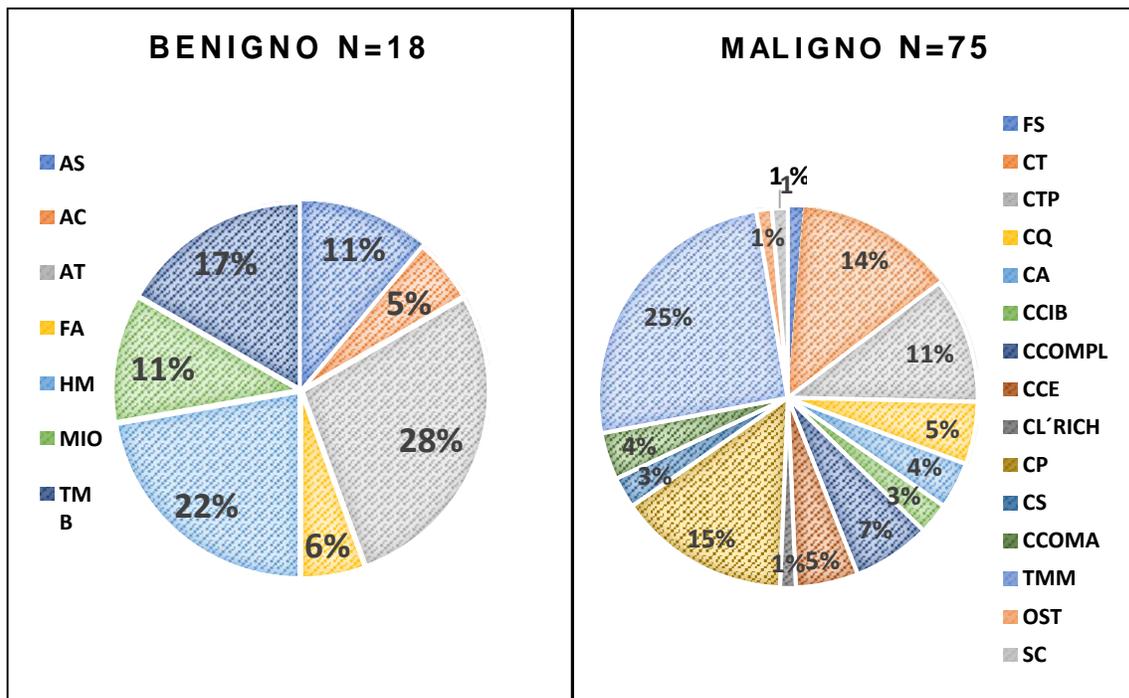


**Figura 5:** **A)** Frecuencia de TMC con características benignas (n=18). **B)** Frecuencia de TMC con características malignas (n=75) ( $P < 0.05$ ).

### 6.5 Frecuencia de TMC de acuerdo a su clasificación morfológica

Basados en el análisis histológico del total de los tumores (N= 93), los tumores mamarios malignos fueron más frecuentes que los benignos. En la figura 6, se muestra la frecuencia de los tipos histológicos descritos en el presente estudio.

De las neoplasias mamarias benignas, los adenomas tubulares (AT) fueron los más frecuentes (5/18, 28%), seguidos de los hemangiomas (HM) (4/18, 22%). De las neoplasias malignas, las más frecuentes fueron los carcinomas tubulares (CT) (11/75, 15%), los carcinomas papilares (CP) (10/75, 14%) y los carcinomas tipo mixto (TMM) (19/74, 25%). Al analizar la frecuencia del TMC según el tejido de origen que lo conforma, se evidenció una distribución similar entre los de tipo mixto y los epiteliales. En los tumores malignos fueron más frecuentes las neoplasias epiteliales, al igual que los benignos.



**Figura 6:** Frecuencia de TMC de acuerdo con sus características histológicas NB y NM; AS: Adenoma simple; AC: Adenoma complejo; AT: Adenoma tubular; FA: Fibroadenoma; HM: Hemangioma; MIO: Mioepitelioma; TMB: Tumor mixto benigno; FS Fibrosarcoma; CT: Carcinoma tubular; CTP: Carcinoma tubulo papilar; CQ: Carcinoma quístico; CA: Carcinoma Anaplásico; CCIB: Carcinoma Cibrinoide; CMPL: Carcinoma complejo; CCE: Carcinoma de Células escamosas; CLR: Carcinoma rico en lípidos; CP: Carcinoma papilar; CS: Carcinoma Sólido, CCOMA: Comedocarcinoma; TMM: Tumor mixto maligno; OST: Osteosarcoma; SC: Sarcoma

## 6.6 Frecuencia de TMC de acuerdo a su tamaño

De los 93 casos en estudio sólo se logró obtener datos del tamaño de sus tumores en 19 de los casos. No se tienen datos descritos de TMC multinodulados salvo en 1, que resultó ser de distintas regiones del cuerpo y de otra estirpe celular. Se observa con mayor frecuencia tumores entre 4 a 5 cm (6/19), seguido de 3 a 4 cm (5/19) y con menor frecuencia, menores a 6 cm o mayores a 2 cm (4/19 en ambos casos).

## 7.0 DISCUSIÓN

De acuerdo con los resultados obtenidos se presentaron casos de TMC a partir de los 2 años de edad, mostrando una tendencia irregular hasta los 15 años. Se dividieron las edades de las perras en 5 grupos etarios y se observó una mayor frecuencia de TMC en el grupo 4 (8 a 11 años) representando 40.86% del total de los casos. La edad con mayor frecuencia de casos fue a los 11 años, con una media de 8 años; distintos autores muestran edades parecidas en sus estudios, por ejemplo, encontraron perras afectadas de entre 4 y 15 años (Sassi y col, 2010), con un promedio de 9 años, Merlo y col. (2008) reporta edades entre 7-9 es decir en estos casos todas eran perras adultas. Kudlip y col. (2012) sin embargo no reportan animales menores a 2 años. Baioni y col. (2017). reportan la incidencia de tumores en el que se aprecia una mayor frecuencia de tumores en hembras (20%) entre 4-6 años de edad siendo la principal causa los TMC lo cual coincide con los resultados del presente estudio.

Recientemente Pinello y col. (2022) reportaron que, el 23.1% del total de los tumores correspondía a TMC. principalmente en perras geriatras(13-17años) Las hembras tuvieron mayor incidencia (58.6%) de tumores de presentar tumores.

Las razas con mayor frecuencia de aparición fueron las razas pequeñas como la Poodle y Chihuahua (20.43%) con la misma cantidad de casos, seguido de la raza Pitbull (10.75%), en tercer lugar la Criolla (8.6%) y Cocker Spaniel (7.5%) lo cual coincide con el estudio realizado por Salas y col., en 2015 donde el 80% de los casos se presentaron en razas puras. sin embargo, hay discrepancia entre reportes según el lugar del estudio, lo popular de la raza, el nivel socioeconómico, la herencia y la predisposición racial asociada a la endogamia (Torres y Botero, 2008; Salas y col. 2015; Morales Briseño, 2014). En el estudio realizado por Baioni y col. (2017) se observa que las razas más afectadas fueron Pastor Alemán (3%) y Boxer (2%) lo cual coincide con Salas y col. (2015) con respecto la incidencia de TMC en el Pastor Alemán ya que muestra una alta incidencia en su reporte. Sin embargo en nuestro estudio la raza Pastor Alemán (3.2%) constituye una minoría de incidencia

al igual que la Boxer (2.1%), sin embargo Im y col. (2013) encontraron una predisposición hacia razas pequeñas principalmente Maltés, Yorkshire Terrier, Shih Tzu y Poodle aunque no fue significativa la proporción de NM y MB entre razas, sí coincide con la frecuencia de TMC en razas pequeñas un A pesar de lo descrito no se ha identificado una mutación genética común en perros (Vidales y col., 2007) Sin embargo en un estudio realizado recientemente encontraron marcadores moleculares en perras tanto enfermas sintomáticas como asintomáticas donde el Labrador Dorado (17%) y en familias de Beagle se encontraron fenotipos diferentes uno susceptible y otro resistente a TMC

Para el caso de los TMC en nuestro estudio se pudo apreciar una mayor frecuencia de tumores de origen epitelial maligno. Podría estar relacionado con el tropismo que tienen los carcinomas mamarios por los estrógenos y la influencia bidireccional de alteraciones hormonales que influyen en el carcinoma mamario sobre todo en perras no esterilizadas (Monlux y col., 1977; Sartin y col., 1992; Sorenmo y col., 2000; Torres y col., 2021). Habría que evaluar las características de la población predisponente tales como los hábitos alimenticios, ya que se ha reportado que la expresión de aromatasa mamaria es significativamente mayor en perros obesos y con sobrepeso, condición que sugiere la mayor producción intratumoral de E2 ya descrita, y explicar, en parte, el riesgo que implica su presencia en el desarrollo de tumor mamario (Torres y col., 2021). También se ha reportado que el consumo de una dieta casera rica en carne de bovino y porcino y escasa en vegetales se asocia a una mayor presentación de estos tumores (Torres y Botero, 2008). El número de partos de las perras según el estudio realizado por Salas y Col., (2015) no presentó para ellos un riesgo a desarrollar TMC. en nuestro estudio fue una frecuencia que no se incluyó.

El tamaño de los TMC en este estudio no fue estadísticamente significativo (19/93 20.43%) pero según Morris y Dobson (2001) el tamaño y volumen del TMC se toma como un criterio de malignidad. Son datos que estadísticamente no se tienen descritos en La Comarca Lagunera, cuestión que dificulta su evaluación pero que

es importante tener en cuenta ya que diversos autores relacionan directamente la ovariectomía con un factor de riesgo

Durante el periodo no fueron remitidas muestras de los linfonodos regionales. Esto representa una limitante para el pronóstico, particularmente en el caso de carcinoma se caracterizan por presentar un patrón infiltrativo agresivo, se comportan como altamente agresivos y tienen una tasa de supervivencia baja. Estos tumores muestran una alta capacidad de crecimiento ilimitado, y son capaces de infiltrarse en el drenaje linfático regional y para causar metástasis en otros tejidos (Yuyie y col., 2019).

Con respecto a la clasificación morfológica de los tumores mamarios en perras, como lo menciona Clemente y col. en 2010; es importante un sistema que discrimine entre tumores que pueden que pueden recidivar o metastatizar por lo que se podría complementar el diagnóstico morfológico para evitar un sobrediagnóstico de malignidad, con el sistema de gradificación que Peña y col., (2012) proponen ya que es una herramienta para un diagnóstico con un mayor valor predictivo en TMC. Sin embargo, para esto es indispensable la histopatología ya que a partir de éste se En este caso únicamente se utilizó la clasificación publicada en *Veterinary Pathology* en el 2011 descrita por Goldschmidt si bien en esta clasificación ya no se utilizan los términos ductal/lobular en las neoplasias que surgen en el conducto terminal ya que no implican el sitio de origen de estas neoplasias sino que se suplen por términos tales como Adenoma simple; AC: Adenoma complejo; AT: Adenoma tubular; Carcinoma tubulo papilar : Carcinoma papilar; y se agregaron nuevos términos de los cuales se clasificaron según morfología tal fue el caso del carcinoma cibriforme que es como un suptipo de carcinoma tubular similar al carcinoma sólido pero con pequeñas aperturas (lúmen) con puentes de células neoplásicas. Con esto se demuestra que la histopatología sigue siendo el mejor método diagnóstico para determinar el tipo de tumor tal como fue el caso de este estudio, así como para gradificar, estadificar y establecer un pronóstico.

## CONCLUSIÓN

De acuerdo a los resultados de este estudio se llega a la conclusión de que, en las perras, los tumores mamarios son un importante problema de salud animal que va en aumento sin embargo el año con mayor número de casos referidos fue en el 2020, y se requiere un mayor desarrollo e investigación utilizando la oncología veterinaria.

En los perros, los tumores mamarios se presentan con frecuencia como lesiones benignas y malignas. Sin embargo, ha habido una tendencia significativa hacia la Neoplasias Malignas. Cabe recalcar que los cánceres de mama más comunes fueron los epiteliales, que los pacientes más afectados son perras de razas pequeñas de 7 a 11 años, y que los tumores más comunes fueron los carcinomas, tumor mixto maligno y Adenoma tubular.

## 9.0 LITERATURA CITADA

1. Aughey E. y Frye L.F. (2001). Comparative veterinary histology with clinical correlates. Manson Publishing Ltd. 1ra Edición Vol (1): 194-195.
2. Canadas A., França M., Pereira C., Vilaça R., Vilhena H., Tinoco F., Silva MJ, Ribeiro J, Medeiros R, Oliveira P, Dias-Pereira P, Santos M. (2019). Canine Mammary Tumors: Comparison of Classification and Grading Methods in a Survival Study. *Vet Pathol.* 48(1):1
3. De Las Mulas J. M., Millan Y. Y Dios R. A. (2005). 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.*; 42:200-212.
4. Demaria S. Pikarsky E. Karin M. Coussens L. M. Chen Y. C. Omar E. M Trinchieri G. Dubinett S. M. Mao J.T. Szabo E. Krieg A. Weiner G. J. Fox B. A. Coukos G. Wang E. Abraham R. T. Carbone M, Lotze M. T. (2010) Cancer and inflammation: promise for biologic therapy. *J Immunother.*; 33:335-351.
5. Dyce K. M. Sack W. O. Wensing C.J. (2012) Anatomía veterinaria. 4ta Edición. México. Editorial Manual Moderno.
6. Egenvall A. Bonnett B. N. Ohagen P. Incidence of and survival after mammary tumors in a population of over 80,000 insured female dogs in Sweden from 1995 to 2002. *Prev Vet Med.* 2005; (69):109-27. PMID: 1
7. Goldschmidt M, Peña L, Rasotto R, Zappulli V. (2011) Classification and Grading of Canine Mammary Tumors. *Veterinary Pathology.*; 48(1):117-131.
8. Goldschmidt, M H, Peña, L and Zappulli V. (2020) Tumors in Domestic Animals Meuten 5 ed. Wiley-Blackwell; 723-765.

9. Jorissen, R.N.; Walker, F.; Pouliot, N.; Garrett, T.; Ward, C.W.; Burgess, A.W. (2003) Epidermal growth factor Receptor: Mechanisms of Activation and Signaling. *Exp. Cell Res.* 284: 31-53.
10. Khandwala H.M. McCutcheon I. E. Flyvbjerg A. Friend K. E. (2000) The effects of insulin-like growth factors on tumorigenesis and neoplastic growth. *Endocr Rev.*; 21(3):215-44.
11. Klopffleisch R. Lenze D. Hummel M. Gruber A. (2010) Metastatic canine mammary carcinomas can be identified by a gene expression profile that partly overlaps with human breast cancer profiles. *BMC Cancer.* (10): 618.
12. Klopffleisch R. Von-Euler H. Sarli G. Pinho S. S. Gärtner F. Gruber A.D. (2011) Molecular carcinogenesis of canine mammary tumors: news from an old disease. *Vet Pathol.* 48(1): 98-116.
13. Kuldip G. Naresh K. Sanjeev K. Mohindro J Mahajan M, Raghunath M. (2012) Epidemiological studies on canine mammary tumor and its relevance for breast cancer studies. *IOSR-PHR.* (1):322-333.
14. Kumar V Mbbs A. Y Md J. A. C. (2017). Robbins Basic Pathology Elsevier.
15. Lee C. H. Kim W. H. Lim J. Kang M. S Kim D. Kweon O. K. (2004) Mutation and overexpression of p53 as a prognostic factor in canine mammary tumors. *J Vet Sci.* 5(1): 63-9.
16. Levin, E.R. (2003) Bidirectional signaling between the estrogen receptor and the epidermal growth factor receptor. *Mol. Endocrinol.*, 17, 309-317.
17. Lim H. Y. Im K. S. Kim N.H. Kim H.W. Shin J. I. Yhee J. Y. Sur J. H. (2015) Effects of Obesity and Obesity-Related Molecules on Canine Mammary Gland Tumors. *Vet. Pathol.*: 1045-1051.
18. Monlux A. W. Roszel J. F. Mac-Vean D. W. (1977) Classification of epithelial canine mammary tumours in a defined population. *Vet Pathol* 14: 194- 217.
19. Peña L. De Andres P.J. (2012) 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.* 50:94-105.

20. Salas Y. Aburto E. Alonso A. R. Márquez A. Corona H. Romero L. (2015) Asociación histológica con factores potenciales de riesgo y tiempo de sobrevida en el tumor mamario canino. Vol. 3(1):1-13.
21. Sassi F. Benazzi C. Y Castellani G. (2010) Molecular-based tumor subtypes of canine mammary carcinomas assessed by immunohistochemistry. *BMC Vet Res.* (6):5.
22. Schneider R. (1970) Comparison of age, sex, and incidence rates in human and canine breast cancer. *Cancer.* 26(2):419-26.
23. Selman P. J. Mol J. A. Rutteman G. R. van Garderen E. Rijnberk A. Progestin-induced growth hormone excess in the dog originates in the mammary gland. *Endocrinology.* 1994;134(1):287-92.
24. Sisson S. Grossman J. D. Getty R. (1996) Anatomía de los animales domésticos. 5º Edición. *Elsevier.* 2(1): 1740-1813.
25. Sleenckx N. De Roster H. Vilchis Kroeze E. J. Van Ginneken C. Van Brantegem L. (2011) Canine mammary tumours, an overview. *Reprod Domest Anim.* Dec. 46 (6): 1112-31.
26. Sonnenschein E. G. Glickman L. T. Goldschmidt M. H. McKee L. J. (1991) Body conformation, diet, and risk of breast cancer in pet dogs: a case-control study. *Am J Epidemiol.* 133(7): 694-703.
27. Sorenmo K.U. Kristiansen V. M. Cofone M. A. Shofer F. S. Breen A. M. Langeland M. Mongil C.M. Grondahl A.M. Teige J. Goldschmidt M. H. (2009) Canine mammary gland tumours; a histological continuum from benign to malignant; clinical and histopathological evidence. *Vet Comp Oncol.* 7(3):162-72.
28. Sorenmo K.U. Shofer F. S. Goldschmidt M. H. (2000) Effect of spaying and timing of spaying on survival of dogs with mammary carcinoma. *J Vet Intern Med.* 14: 266-270.
29. Torres C. G., Iturriaga M. P. Y Cruz P. (2021) Hormonal Carcinogenesis in Canine Mammary Cancer: Molecular Mechanisms of Estradiol Involved in Malignant Progression. *Animals.* 11(3): 608.

30. Torres C. Antileo E. Epuñan. M. J. Pino A. M. Valladares L.E. Sierralta, W.D. (2008) A cyclic peptide derived from alpha fetoprotein inhibits the proliferative effects of EGF and estradiol in MCF7 cells. *Oncol. Rep.* 19(1): 1597-1604.
31. Torres C.G. Pino A. M. Sierralta W. D. (2009) A cyclized peptide derived from alpha fetoprotein inhibits the proliferation of ER-positive canine mammary cancer cells. *Oncol. Rep.* 21(1); 1397-1404.
32. Wakui S, Muto T, Yokoo K, Yokoo R, Takahashi H, Masaoka T, Hano H, Furusato M. (2001) Prognostic status of p53 gene mutation in canine mammary carcinoma. *Anticancer Res. (1B)* :611-6.
33. Yager J. D. Davidson N. E. (2006) Estrogen Carcinogenesis in Breast Cancer. *N. Engl. J. Med.*, 354, 270-282.
34. Zachary J. F. (2017) Pathology basis of veterinary disease. *Elsevier* 6ta ed: 122-123.
35. Clemente M. Perez-Alenza M. D. Pena L. (2010) Metastasis of canine inflammatory versus non-inflammatory mammary tumours. *J Comp Pathol.* 143:157-163.