

Neoplasias mamarias caninas

Guía de interpretación de informes anatomopatológicos

I. LA CLASIFICACIÓN DE LAS NEOPLASIAS MAMARIAS

Nuevas entidades

La clasificación que empleamos actualmente en el diagnóstico de neoplasias mamarias es la propuesta por Goldschmidt y Peña (Goldschmidt et al. 2011). Se basa en la anterior de 1999 (Misdorp 1999) e incluye **seis nuevas entidades** o tipos tumorales reconocidos: el carcinoma cribiforme, el comedocarcinoma, el carcinoma micropapilar invasivo, el carcinoma ductal, el carcinoma papilar intraductal y el carcinoma y mioepitelioma maligno.

Indicamos a continuación la actual clasificación con las nuevas entidades resaltadas en negrita.

Neoplasias malignas epiteliales	Neoplasias malignas epiteliales (Tipos especiales)	Neoplasias malignas mesenquimatosas	Carcinosarcoma (Tumor Mixto Maligno)
1 Carcinoma in situ 2 Carcinoma simple Tubular Tubulopapilar Quístico-papilar Cribiforme 3 Carcinoma Micropapilar Invasivo 4 Carcinoma Sólido 5 Comedocarcinoma 6 Carcinoma Anaplásico 7 Carcinoma sobre adenoma complejo/tumor mixto 8 Carcinoma Complejo 9 Carcinoma y Mioepitelioma Maligno 10 Carcinoma Mixto 11 Carcinoma Ductal 12 Carcinoma Papilar Intraductal	13 Carcinoma de células escamosas 14 Carcinoma Adenoescamoso 15 Carcinoma Mucinoso 16 Carcinoma Rico en Lípidos 17 Carcinomas de Célula Fusiforme: Mioepitelioma Maligno Carcinoma de Célula escamosa (var. fusiforme) Carcinoma, var. célula fusiforme 18 Carcinoma Inflamatorio	Osteosarcoma Condrosarcoma Fibrosarcoma Hemangiosarcoma Otros sarcomas	
Neoplasias benignas	Hiperplasias y displasias	Neoplasias del pezón	Hiperplasia/displasia del pezón
Adenoma Simple Adenoma Papilar Intraductal Adenoma Ductal Fibroadenoma Mioepitelioma Adenoma Complejo Tumor Mixto Benigno	Ectasia ductal Hiperplasia lobular (Adenosis) Regular Lactacional Con fibrosis Con atipia Epiteliosis Papilomatosis Cambio Fibroadenomatoso Ginecomastia	Adenoma Carcinoma Carcinoma Pagetoide	Melanosis cutánea del pezón

El conocimiento de los tipos neoplásicos es importante desde el punto de vista clínico porque tiene implicaciones pronósticas y terapéuticas. Las columnas superiores contienen las neoplasias malignas y aparecen en un cierto orden de progresión maligna. Así, el Carcinoma *in situ* es la lesión de menor grado. Dentro del tipo "Carcinoma simple" se incluyen cuatro variedades morfológicas también ordenadas de menor a mayor malignidad. El grupo del 3 al 6 contiene carcinomas globalmente más agresivos que las formas simples del grupo 2. Y los tipos 7 y 8, que combinan epitelio y mioepitelio, tienen, en general, mejor pronóstico que las formas simples de carcinoma.

II. LA GRADACIÓN DE LAS NEOPLASIAS MAMARIAS

Junto con el tipo de neoplasia, en el caso de los carcinomas, se añade una **gradación del I al III** (bajo grado, grado intermedio, alto grado). El sistema de gradación empleado es una adaptación del sistema Elston-Ellis utilizado actualmente en neoplasias mamarias humanas (Elston, Ellis 1991), también conocido como sistema Nottingham. Se basa en el examen y puntuación de tres elementos morfológicos: la proporción de arquitectura tubular de la neoplasia, el grado de pleomorfismo nuclear y el índice mitótico (ver tabla 1) (Clemente et al. 2010) (Peña et al. 2013) (Rezaie et al. 2009) (Karayannopoulou et al. 2005).

Tabla 1. Criterios de gradación histológica (Peña et al. 2013)

Formación de túbulos	
1	Formación de túbulos en más del 75% de la neoplasia
2	Formación tubular en 10-75%, con algunas áreas sólidas
3	Formación de túbulos inferior al 10%
Pleomorfismo Nuclear	
1	Núcleos pequeños, uniformes; nucléolos ocasionales
2	Anisocariosis moderada, hiper cromasia nuclear, presencia de nucléolos, algunos prominentes
3	Anisocariosis marcada, hiper cromasia, uno o más nucléolos prominentes
Mitosis por Campo Grandes Aumentos (HPF)	
1	0-9 mitosis/10 HPF ¹
2	10-19 mitosis/10 HPF
3	>20 mitosis/10 HPF
Puntuación total	
3-5	I (bajo, bien diferenciado)
6-7	II (intermedio, moderadamente diferenciado)
8-9	III (alto, pobremente diferenciado)

A título orientativo, indicamos los resultados obtenidos por el grupo de Peña (Peña et al. 2013) en un reciente estudio prospectivo con 65 pacientes.

¹ "High power field" o campo de gran aumento, referido al empleo del objetivo 40x.

El "tiempo libre de enfermedad" se define como el tiempo libre de recidiva y/o metástasis desde el momento de la cirugía (Tabla 2)

Tabla 2. Tiempo libre de enfermedad en función del grado histológico (Peña et al. 2013).

Grado	Tiempo libre de enfermedad
I	37 meses (35.93-38.65)
II	32 meses (27.15-38.21)
III	18 meses (11.39-24.17)

La supervivencia media a uno y dos años tras la cirugía aparece representada en la tabla 3.

Tabla 3. Supervivencias a 1 y 2 años de la primera cirugía (Peña et al. 2013)

Grado	Supervivencia a 1 año	Supervivencia a 2 años	Supervivencia Media (meses)
I	100%	100%	> 38
II	80%	80%	33 (27.48-38.20)
III	70%	30%	20.36 (13.95-26.77)

Tabla 4. Relación entre el grado histológico, el riesgo de recurrencia/metástasis y la supervivencia global (Peña et al. 2013)

Grado	Porcentaje de Recidivas/Metástasis	Porcentaje de muerte atribuible
I (n=29)	3.4%	0%
II (n=19)	15.8%	15.8%
III (n=17)	58.8%	58.8%

III. OTROS FACTORES CON VALOR PRONÓSTICO

El tipo histológico y el grado histológico no son, sin embargo, las únicas variables que influyen sobre el pronóstico. A continuación indicamos otros parámetros a tener en cuenta:

Tamaño del tumor. Los tumores menores de 3 cm (T_1) presentan mejor pronóstico que los mayores de 3 cm (T_2 y T_3). Peña refiere la existencia de correlación entre el tamaño tumoral y la supervivencia, de manera que las neoplasias de tamaño inferior a 1 cm se asocian con supervivencias del 100% a los dos años, los tumores de entre 1 y 2,9 cm con supervivencias del 80% aproximadamente y los tumores mayores de 3 cm con supervivencias del 60% aproximadamente a los dos años de la cirugía (Peña et al. 2013).

Metástasis ganglionar. Las neoplasias con metástasis ganglionares confirmadas citológica o histológicamente se clasifican como de grado IV en la clasificación TNM, con independencia del tamaño que posean. La existencia de metástasis intraganglionares se correlaciona con tiempos de supervivencia menores para metástasis mayores de 2 mm, pero no parece existir diferencia cuando se trata de micrometástasis menores de 2 mm (Szczybiał, Łopuszynski 2011). Se han referido micrometástasis detectables únicamente mediante inmunohistoquímica en hasta un 9% de pacientes con neoplasia maligna y sin evidencias de metástasis por otros medios (Matos, A J F et al. 2006).

Coexistencia de tejido mioepitelial. Las neoplasias que contienen mioepitelio junto con el componente carcinomatoso presentan mejor pronóstico que los carcinomas simples (un solo tipo celular). La célula mioepitelial parece tener efectos inhibidores del crecimiento, invasión y angiogénesis (Deugnier, 2002; Pandey, 2010).

IV. FACTORES MOLECULARES

Los estrógenos y los receptores de estrógenos (ER)

- Tienen un papel esencial en el desarrollo del tejido mamario y en la progresión neoplásica.
- Los estrógenos ejercen su función mediante la unión a receptores (ER α y ER β) presentes fundamentalmente en el núcleo celular como miembros de una superfamilia de factores de transcripción.
- A través de vías génicas y no génicas, el complejo E+ER conduce a procesos nucleares y extranucleares que promueven la proliferación celular y su diferenciación.
- Los tumores mamarios expresan receptores hormonales, especialmente los benignos, indicando una probable influencia y dependencia hormonal (MacEwen et al. 1982) (Rutteman et al. 1988) (Illera et al. 2006) (Millanta et al. 2005) (Donnay et al. 1995). Dicha expresión es más notable en portadoras no castradas, jóvenes y/o en fase estral. La presencia de receptores se correlaciona también con el tamaño del tumor y su grado de diferenciación, de manera que los tumores grandes y los tumores poco diferenciados expresan menos receptores (Donnay et al. 1995) (de Las Mulas, J Martín et al. 2005) (Chang et al. 2009) (Nieto et al. 2000).
- Mientras que en patología humana el análisis de receptores hormonales es, desde hace años, una práctica rutinaria, la mayor parte de la información en el ámbito veterinario se ha obtenido por medios bioquímicos.
- Algunos estudios parecen demostrar la utilidad del marcaje inmunohistoquímico de receptores como herramienta pronóstica (Nieto et al. 2000). Sin embargo, existen también estudios que no detectan dicha utilidad (de Las Mulas, J Martín et al. 2005) por lo que la cuestión permanece abierta. Actualmente los datos disponibles presentan demasiadas desviaciones por motivos probablemente metodológicos y de falta de estandarización, aportando valores de expresión de receptores hormonales que oscilan del 10 al 92% (MacEwen, 1982; Rutteman, 1988; Illera, 2006; Millanta, 2005; Donnay, 1995; de las Mulas, 2005; Chang, 2009; Nieto, 2000; Geraldés et al. 2000; Peña et al. 2014).

"Human Epidermal Growth Factor Receptor-2" (HER-2)

- La familia HER de tirosin kinasas incluye cuatro miembros relacionados: Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR, HER-1 o c-erbB-1), HER-2 (también denominado c-erbB-2 o neu), HER-3 (c-erbB-3) y HER-4 (c-erbB-4).
- Comparten una estructura común con un dominio extracelular, un dominio transmembranal y un dominio intracelular con actividad tirosin kinasa.
- La unión de un factor de crecimiento (ligando) genera una homo- o una heterodimerización con otro miembro de la familia que conduce a la activación tirosin kinasa. Entre otras, se activa la vía MAPK ("mitogen activated protein kinase) y la vía PI3K_AKT ("phosphatidylinositol 3 kinase), inductoras de proliferación, adhesión, migración, diferenciación, angiogénesis e inhibición de apoptosis.
- En humana HER-2 aparece amplificado y sobreexpresado en un 15-30% de tumores mamarios y se correlaciona con mayor agresividad y mayor resistencia a la quimioterapia.
- En el ámbito veterinario los estudios de HER-2 son muy limitados y su sobreexpresión es de interpretación todavía incierta. Mientras que algunos trabajos revelan o bien amplificación del gen (Ahern et al. 1996) o bien sobreexpresión de la proteína (Rungsipat et al. 1999), otros no detectan amplificación génica en tumores que sobreexpresan proteína (Martín de las Mulas, J et al. 2003).
- Mientras que la sobreexpresión se asocia en algunos trabajos con indicadores de mal pronóstico (Martín de las Mulas, J et al. 2003); (Dutra et al. 2004), en otros se asocia con tiempos de supervivencia más prolongados (Hsu et al. 2009) (Gama et al. 2008).
- Parte de las discordancias podrían deberse a razones metodológicas. Recientemente se ha publicado una guía de consenso con el fin de homogeneizar técnicas e interpretación de resultados (Peña, 2014).

"Epidermal Growth Factor Receptor" (EGFR)

- Receptor transmembranal de tipo tirosin kinasa activado por distintos ligandos (EGF, TGF- α).
- Se expresa con frecuencia (60%) en carcinomas mamarios humanos de tipo basaloides y se ha asociado con comportamiento agresivo y mal pronóstico, aunque su utilidad como factor pronóstico sigue en discusión. Fuera de este subgrupo, la amplificación de EGFR es bastante infrecuente.
- La investigación de EGFR en neoplasias mamarias caninas es escasa y basada fundamentalmente en métodos bioquímicos. Dichos trabajos no revelan relaciones entre el estatus de EGFR y parámetros clínicos. Es más, algunos trabajos indican una relación inversa entre EGFR y ER en neoplasias malignas mientras otros detectan correlación positiva o ausencia de correlación.

E-Cadherina

- Glicoproteína transmembranal cuyo dominio extracelular promueve la adhesión célula-célula, mientras que su dominio intracelular interactúa con cateninas (β -, γ - y δ -cateninas), encargadas de unir la cadherina con actina citoesquelética.
- Su expresión es esencial para la inducción y mantenimiento de la polarización y diferenciación epitelial durante el desarrollo embriológico. En tejidos adultos es necesaria para el mantenimiento de las adherencias celulares. Se ha propuesto, por ello, que su alteración podría suponer un mecanismo facilitador de invasividad en células neoplásicas.
- Tanto en tejido mamario humano como canino, E-cadherina se expresa en el epitelio luminal y el mioepitelio basal. En humana, la pérdida de E-cadherina en células neoplásicas se ha relacionado con progresión tumoral. Aún así, su valor como marcador de pronóstico sigue en controversia.
- Como en los casos anteriores, la literatura al respecto en el ámbito veterinario es escasa y el papel de E-cadherina en neoplasias mamarias es poco conocido. Algún trabajo señala correlación entre invasividad y reducción de E-cadherina/ β -catenina pero sin correlación con la supervivencia.

V. INDICACIONES PARA LA REMISIÓN DE TUMORES MAMARIOS

Si queremos optimizar la información diagnóstica y pronóstica que un informe de Anatomía Patológica puede aportar es aconsejable seguir unas pautas correctas en la toma, el manejo y la remisión de las muestras, así como en la información que debe acompañarlas.

- a. Las piezas deben remitirse en formol tamponado al 10% en envases con espacio suficiente para no deformar el tejido. Las deformaciones alteran la medición del tamaño tumoral y sus márgenes y puede alterar o invalidar el pronóstico en este aspecto.
- b. Si se remiten varios tumores deben identificarse individualmente señalando su localización para que el informe pueda referirse a ellos también de forma individualizada. En caso contrario puede darse la circunstancia, por ejemplo, de que el informe refiera un tumor benigno y otro maligno, pero no pueda indicar a qué mama corresponde cada uno. Para la identificación de muestras nos referimos a la "Guía de Toma de Muestras".
- c. Si se remiten tumores grandes, de más de 5 cm, existen varias opciones:
 - i. Empleo de envases de gran volumen. Si se quiere evitar el envío de grandes volúmenes de formol, se puede fijar la pieza en la clínica durante 24h y remitirla con un volumen mínimo de fijador que únicamente evite la desecación.
 - ii. Despiece de la masa, por ejemplo, en cuatro partes mediante sección longitudinal y transversal y reparto en envases distintos identificados. Cada cuarto debe ir identificado y acompañado de un esquema gráfico que permita al patólogo recomponer la pieza.
- d. Si no se remite toda la pieza quirúrgica, debe indicarse el tipo de cirugía practicado. Por ejemplo, si se practica una mastectomía regional pero sólo se remite el tumor disecado, conviene que el patólogo lo sepa.
- e. Indicar la valoración clínica de ganglios linfáticos o, si existen, otras exploraciones (radiografías, etc.).
- f. Indicar si existen antecedentes de neoplasia mamaria y sus características. Es especialmente relevante. No se valora de la misma manera una neoplasia *de novo* que una potencial recidiva.

REFERENCIAS

- Ahern, T. E.; Bird, R. C.; Bird, A. E.; Wolfe, L. G. (1996): Expression of the oncogene c-erbB-2 in canine mammary cancers and tumor-derived cell lines. In *Am. J. Vet. Res.* 57 (5), pp. 693–696.
- Chang, Chao-Chin; Tsai, Min-Hsuan; Liao, Jiunn-Wang; Chan, Jacky Peng-Weng; Wong, Min-Liang; Chang, Shih-Chieh (2009): Evaluation of hormone receptor expression for use in predicting survival of female dogs with malignant mammary gland tumors. In *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 235 (4), pp. 391–396.
- Clemente, M.; Pérez-Alenza, M. D.; Illera, J. C.; Peña, L. (2010): Histological, immunohistological, and ultrastructural description of vasculogenic mimicry in canine mammary cancer. In *Vet. Pathol.* 47 (2), pp. 265–274.
- de Las Mulas, J Martín; Millán, Y.; Dios, R. (2005): 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. In *Vet. Pathol.* 42 (2), pp. 200–212.
- Deugnier, Marie-Ange; Teulière, Jérôme; Faraldo, Marisa M.; Thiery, Jean Paul; Glukhova, Marina A. (2002): The importance of being a myoepithelial cell. In *Breast Cancer Res.* 4 (6), pp. 224–230.
- Donnay, I.; Rauís, J.; Devleeschouwer, N.; Wouters-Ballman, P.; Leclercq, G.; Verstegen, J. (1995): Comparison of estrogen and progesterone receptor expression in normal and tumor mammary tissues from dogs. In *Am. J. Vet. Res.* 56 (9), pp. 1188–1194.
- Dutra, A. P.; Granja, N V M; Schmitt, F. C.; Cassali, G. D. (2004): c-erbB-2 expression and nuclear pleomorphism in canine mammary tumors. In *Braz. J. Med. Biol. Res.* 37 (11), pp. 1673–1681.
- Elston, C. W.; Ellis, I. O. (1991): Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. In *Histopathology* 19 (5), pp. 403–410.
- Gama, A.; Alves, A.; Schmitt, F. (2008): Identification of molecular phenotypes in canine mammary carcinomas with clinical implications: application of the human classification. In *Virchows Arch.* 453 (2), pp. 123–132.
- Geraldes, M.; Gärtner, F.; Schmitt, F. (2000): Immunohistochemical study of hormonal receptors and cell proliferation in normal canine mammary glands and spontaneous mammary tumours. In *Vet. Rec.* 146 (14), pp. 403–406.
- Goldschmidt, M.; Peña, L.; Rasotto, R.; Zappulli, V. (2011): Classification and grading of canine mammary tumors. In *Vet. Pathol.* 48 (1), pp. 117–131.
- Hsu, Wei-Li; Huang, Hui-Min; Liao, Jiunn-Wang; Wong, Min-Liang; Chang, Shih-Chieh (2009): Increased survival in dogs with malignant mammary tumours overexpressing HER-2 protein and detection of a silent single nucleotide polymorphism in the canine HER-2 gene. In *Vet. J.* 180 (1), pp. 116–123.
- Illera, Juan C.; Pérez-Alenza, Maria D.; Nieto, Ana; Jiménez, Maria A.; Silvan, Gema; Dunner, Susana; Peña, Laura (2006): Steroids and receptors in canine mammary cancer. In *Steroids* 71 (7), pp. 541–548.
- Karayannopoulou, M.; Kaldrymidou, E.; Constantinidis, T. C.; Dessiris, A. (2005): Histological grading and prognosis in dogs with mammary carcinomas: application of a human grading method. In *J. Comp. Pathol.* 133 (4), pp. 246–252.
- MacEwen, E. G.; Patnaik, A. K.; Harvey, H. J.; Panko, W. B. (1982): Estrogen receptors in canine mammary tumors. In *Cancer Res.* 42 (6), pp. 2255–2259.
- Martin de las Mulas, J; Ordás, J.; Millán, Y.; Fernández-Soria, V.; Ramón y Cajal, S (2003): Oncogene HER-2 in canine mammary gland carcinomas: an immunohistochemical and chromogenic in situ hybridization study. In *Breast Cancer Res. Treat.* 80 (3), pp. 363–367.
- Matos, A J F; Faustino, A M R; Lopes, C.; Rutteman, G. R.; Gärtner, F. (2006): Detection of lymph node micrometastases in malignant mammary tumours in dogs by cytokeratin immunostaining. In *Vet. Rec.* 158 (18), pp. 626–630.
- Millanta, F.; Calandrella, M.; Bari, G.; Niccolini, M.; Vannozzi, I.; Poli, A. (2005): Comparison of steroid receptor expression in normal, dysplastic, and neoplastic canine and feline mammary tissues. In *Res. Vet. Sci.* 79 (3), pp. 225–232.
- Misdorp, Wim (1999): Histological classification of mammary tumors of the dog and the cat. Washington, D.C: Armed Forces Institute of Pathology in cooperation with the American Registry of Pathology and the World Health Organization Collaborating Center for Worldwide Reference on Comparative Oncology (World Health Organization international histological classification of tumors of domestic animals, 2nd ser., v. 7).
- Nieto, A.; Peña, L.; Pérez-Alenza, M. D.; Sánchez, M. A.; Flores, J. M.; Castaño, M. (2000): Immunohistologic detection of estrogen receptor alpha in canine mammary tumors: clinical and pathologic associations and prognostic significance. In *Vet. Pathol.* 37 (3), pp. 239–247.
- Pandey, Puspa Raj; Saidou, Jamila; Watabe, Kounosuke (2010): Role of myoepithelial cells in breast tumor progression. In *Front Biosci (Landmark Ed)* 15, pp. 226–236.
- Peña, L.; De Andrés, P J; Clemente, M.; Cuesta, P.; Pérez-Alenza, M. D. (2013): 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. In *Vet. Pathol.* 50 (1), pp. 94–105.
- Peña, L.; Gama, A.; Goldschmidt, M. H.; Abadie, J.; Benazzi, C.; Castagnaro, M. et al. (2014): Canine Mammary Tumors: A Review and Consensus of Standard Guidelines on Epithelial and Myoepithelial Phenotype Markers, HER2, and Hormone Receptor Assessment Using Immunohistochemistry. In *Vet. Pathol.* 51 (1), pp. 127–145.
- Rezaie, A.; Tavasoli, A.; Bahonar, A.; Mehrazma, M. (2009): Grading in Canine Mammary Gland Carcinoma. In *J. of Biological Sciences* 9 (4), pp. 333–338.
- Rungsipat, A.; Tateyama, S.; Yamaguchi, R.; Uchida, K.; Miyoshi, N.; Hayashi, T. (1999): Immunohistochemical analysis of c-yes and c-erbB-2 oncogene products and p53 tumor suppressor protein in canine mammary tumors. In *J. Vet. Med. Sci.* 61 (1), pp. 27–32.
- Rutteman, G. R.; Misdorp, W.; Blankenstein, M. A.; van den Brom, W E (1988): Oestrogen (ER) and progestin receptors (PR) in mammary tissue of the female dog: different receptor profile in non-malignant and malignant states. In *Br. J. Cancer* 58 (5), pp. 594–599.
- Szczubiał, M.; Łopuszynski, W. (2011): Prognostic value of regional lymph node status in canine mammary carcinomas. In *Vet Comp Oncol* 9 (4), pp. 296–303.