



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

EVALUACIÓN CITOLÓGICA, ANATOMOPATOLÓGICA Y ESTADIFICACIÓN CLÍNICA DEL
MASTOCITOMA CUTÁNEO CANINO DE CASOS IDENTIFICADOS EN CLÍNICAS
VETERINARIAS PERTENECIENTES A LA ZONA NORTE
DEL DISTRITO METROPOLITANO DE QUITO

Trabajo de Titulación presentado en conformidad con los requisitos establecidos
para optar por el título de Médico Veterinario Zootecnista

Profesor Guía
MVZ. Julio Renán Ortiz Yépez

Autora
Ana Karina Paredes Castillo

Año
2016

DECLARACIÓN DEL PROFESOR GUÍA

“Declaro haber dirigido este trabajo a través de reuniones periódicas con el estudiante, orientando sus conocimientos y competencias para un eficiente desarrollo del tema escogido y dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación”

Julio Renán Ortiz Yépez
Maestro en Medicina Veterinaria y Zootecnia
C.I.: 1719925032

DECLARACIÓN DEL PROFESOR CORRECTOR

“Declaro haber revisado este trabajo, dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación”

Elmer Alexander Genoy Puerto
Maestro en Medicina Veterinaria y Zootecnia
C.I.: 1757589278

DECLARACION DE AUTORÍA DEL ESTUDIANTE

“Declaro que este trabajo es original, de mi autoría, que se han citado las fuentes correspondientes y que en su ejecución se respetaron las disposiciones legales que protegen los derechos de autor vigentes”

Ana Karina Paredes Castillo
C.I.: 1721585584

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por darme la sabiduría de seguir adelante y tomar el camino correcto para mi vida.

A mis padres por inculcarme valores, enseñarme la perseverancia y que todo éxito se lo gana con esfuerzo y dedicación. Su apoyo y comprensión ha sido muy importante para esta etapa de mi vida. Gracias mamita por ser más que mi madre mi mejor amiga y ejemplo a seguir. Gracias papito por incentivar me a ser mejor persona y una excelente profesional teniéndote a ti como mi mentor.

A mis hermanas Majo y Danna por ser las personas que alegran mi vida y mi persona favorita

Al Dr. Julio Ortiz por brindarme todos sus conocimientos y prestarse a este proyecto, puesto que, gracias a su ayuda logré concluir mi carrera profesional.

Gracias a NOVA Veterinaria, Veterinaria “Beagle” Veterinaria “Perros & Gatos” y Veterinaria “UDLA” por su confianza en la remisión de casos.

A mis amigas y grandes futuras colegas Pao, Caro, Topa y Gigi por su incondicionalidad. A Nico por tus palabras de aliento y colaboración en esta tesis.

Al Dr. Santiago Prado por sus conocimientos y apoyo.

Al PhD. Marco Coral por apertura y ayuda en el desarrollo de este trabajo.

DEDICATORIA

Esta tesis está dedicada a mis padres y a mi Papi Jacinto.

RESUMEN

El presente trabajo tuvo como objetivo la evaluación citológica, anatomopatológica y estadificación clínica del mastocitoma cutáneo canino de casos identificados en clínicas veterinarias pertenecientes a la zona norte del Distrito Metropolitano de Quito, en un periodo de 6 meses (enero - julio 2016). Para el desarrollo de esta investigación se procedió con la recopilación de la ficha clínica y valoración macroscópica de la masa de cada paciente. Posterior a esto se realizó citología, por PAAF, e histopatología, por biopsia escisional o incisional. Para la gradificación, se valoró la frecuencia del grado del tumor en los pacientes de histopatología mediante el método de Gradificación de Kuipel (2011), y por último la estadificación según la OMS, en base a la valoración macroscópica de la lesión. Los resultados del estudio analítico en citología fueron que las razas Boxer y mestizo son predominantes; en cuanto a la edad, caninos adultos y gerontes presentaron el tumor; para la variable sexo, la mayor parte de machos resultó positivo y la ubicación anatómica más frecuente fue en el muslo. En cuanto a los resultados analíticos de histopatología se encontró que en la raza mestiza fue común la presencia del mastocitoma, de igual manera en la variable edad los pacientes adultos y gerontes presentaron predominancia a la neoplasia; así mismo, ocurrió con el factor sexo, donde la predisposición fue en machos, y el muslo fue la zona anatomopatológica más común. Para la Gradificación según Kiupel los resultados de la neoplasia con más frecuencia fue de grado bajo. En cuanto a la estadificación, la etapa más común del tumor fue la etapa I y sin signos sistémicos. Por último, se observó la existencia de lesiones macroscópicas de la masa donde predominó alopecia. Para la parte estadística la única relación con el mastocitoma fue la ubicación anatómica en el muslo (p valor 0.05) y la asociación de eritema con el sexo macho (p valor 0.04). Para las demás variables no se encontró significancia alguna. Por lo que estadísticamente no hay relación de ciertas variables mientras que cuantitativamente si la hay, esto debido al número limitado de pacientes.

ABSTRACT

The aim of the present study was to perform a cytological and anatomopathological evaluation following by the clinical staging of canine cutaneous mast cell tumor. Clinical cases identified in veterinary clinics from the north of the Metropolitan District of Quito over a period of 6 months (January-July 2016) were used. For this research, clinical files were collected and a macroscopic evaluation of the mass of each patient was required. Following this, a cytology with a fine needle puncture and a histopathology exam by excisional or incisional biopsy were performed. For the clinical staging, the frequency of different tumor grades were recorded by the Kuipel staging method (2011). Staging was also assessed according to WHO, based on the macroscopic evaluation of the injury. The analytical results of the cytology study showed that Boxer and mix breed dogs were predominant; in terms of age, adults and elderly canines were more likely to present the tumor; for the variable sex, most males tested positive and the most frequent anatomical location was in the thigh. The analytical results from histopathological evaluation found that mastocytoma was commonly seen in mixed breed dog. Adult and elderly patients showed a predominance to this neoplasia, as well as male dogs and the thighs were the most common pathologic area. The Kiupel staging method revealed low grade neoplasia was the most frequent one. The most common tumor stage was stage I without systemic signs. Finally, alopecia predominated as a gross lesion of the mass. The only variables with statistical significance were the anatomical location of the mass, which were the thighs (p value 0.05) and erythema associated with the male sex (p value 0.04). Other variables showed only quantitative differences due to the limited number of patient

ÍNDICE

1. CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN	1
1.1 Introducción	1
1.2 Objetivo general	2
1.3 Objetivos específicos	2
1.4 Justificación	2
1.5 Antecedentes	3
2. CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO.....	4
2.1 Neoplasias cutáneas.....	4
2.2 Mastocitoma.....	6
3. CAPÍTULO III: METODOLOGÍA.....	16
3.1 Diseño del estudio	16
3.2 Ubicación geográfica y/o urbana	16
3.3 Características de la unidad experimental.....	16
3.4 Materiales y métodos	16
3.5 Hipótesis	22
3.6 Limitaciones	23
4. CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN	24
ANÁLISIS ESTADÍSTICO Y ANALÍTICO	24
4.1 Primer grupo – Citología	24
4.2 Segundo grupo – Histopatología	30
4.3 Tercer grupo – Estudio macroscópico.....	35
4.4 Cuarto grupo – Estadificación OMS	40
5. CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	42
5.1 Conclusiones	42
5.2 Recomendaciones	43

REFERENCIAS	44
ANEXOS	49

1. CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN

1.1 Introducción

La presencia y estudio de neoplasias cutáneas en el campo veterinario ha ido aumentando en cuanto a su casuística, por ejemplo la epidemiología depende de la prevalencia e incidencia de las enfermedades así como los factores de riesgo que define a la población (Bahrami et al., 2014, p.2). Entre las neoplasias cutáneas, el mastocitoma es considerado uno de los tumores cutáneos más comunes de carácter maligno debido a la presencia de mastocitos que se encuentran en la mayoría de órganos y tejidos que pueden ser activados bajo varios factores (Welle et al., 2008, p.321).

Factores predisponentes como la edad, sexo, raza y ubicación anatómica han sido estudiados para determinar la relación de estas variables con la presencia del tumor.

Así, en cuanto a la edad se sabe que el rango va de 2 – 13 años; según el sexo no se ha encontrado predisposición ya que los resultados de investigaciones previas son múltiples. La presencia de razas braquiocefálicas, Golden Retriever, Labrador, Sharpei, Weimaraner, Bullmastiff, Teckel, Pastor Alemán, Rottweiler, Schnauzer, Poodle y mestizas entran en el grupo de susceptibilidad racial. La ubicación anatómica con el análisis de las lesiones de la masa coincide en zonas específicas como pecho, tronco, muslo, cabeza, cuello, región perianal, es decir, distribuido por todo el cuerpo (Cartagena, 2011, p.103).

El diagnóstico del tumor de células mastocíticas se lo realiza mediante el estudio citológico e histopatológico (con gradificación) y clínicamente se realizará una estadificación según la OMS (Withrow et al., 2013, p.340) con el fin de instaurar un posible tratamiento y pronóstico de vida del paciente.

1.2 Objetivo general

Evaluación citológica, anatomopatológica y estadificación clínica del mastocitoma cutáneo canino de casos identificados en Clínicas Veterinarias pertenecientes a la zona norte del Distrito Metropolitano de Quito

1.3 Objetivos específicos

- Identificar a los animales afectados con mastocitoma cutáneo canino mediante la técnica de citología con la tinción de Diff Quick®.
- Evaluar las características macroscópicas del mastocitoma cutáneo canino de los casos positivos al diagnóstico citológico e histopatológico.
- Clasificar los tumores de los animales afectados con mastocitoma cutáneo canino por medio de histopatología mediante el sistema de gradificación histológico actual de Kiupel.
- Estadificar clínicamente a los tumores de los animales afectados con mastocitoma cutáneo canino por medio del sistema de gradificación de la Organización Mundial de la Salud.
- Evaluar la relación del mastocitoma cutáneo canino en el estudio con las variables: edad, sexo, raza y ubicación anatómica.

1.4 Justificación

El mastocitoma es una neoplasia común en perros, abarca del 20 al 25% de los tumores cutáneos; este tumor se caracteriza por originarse de las células cebadas y tiene una participación importante en la actividad inmune, migración y activación de neutrófilos y reacciones de hipersensibilidad. Los mastocitomas pueden presentarse en cualquier raza, sin embargo, razas como Bóxer, Bulldog, Golden Retriever, Labrador y Sharpei han demostrado tener predisposición racial; al hablar de la edad es fundamental mencionar que los

perros de edad avanzada son más propensos a presentar esta patología (Álvarez, 2011, p.1).

En el Ecuador, estudios sobre la presencia de tumores han sido realizados en forma general; por esta razón no existen investigaciones relacionadas con la presencia de mastocitoma, inclusive no hay precaución para la extracción quirúrgica de este tipo de masa, lo que puede ocasionar recidivas e incluso metástasis.

Es por esto, que es imperativo implementar métodos correctos de diagnóstico para este tipo de neoplasia; y así poder obtener referencias para casos futuros.

1.5 Antecedentes

Años atrás, en la medicina veterinaria la presencia de tumores cutáneos aumentó notablemente, debido a que las masas en piel eran evidentes, lo que conllevó a realizar una clasificación histológica de acuerdo a su tejido de origen (epitelial, mesenquimatoso, melanótico). (Meuten, 2002, p. 45).

Los tumores de piel son más frecuentes en perros, correspondiendo a un tercio de todas las neoplasias. Estudios realizados en 1986 estiman que la incidencia anual fue de 450 casos por cada 100.000 caninos. En 1987, nuevas investigaciones encontraron que de 6.282 casos, el mastocitoma ocupó el primer lugar con el 18.8% de casos. (Withrow y Vail, 2009, p.371)

En el Ecuador, las investigaciones realizadas han sido de tesis de pregrado. Así, en la ciudad de Loja el mastocitoma estuvo presente con el 46.16% (n=6/13) siendo el tumor de mayor incidencia (Moreno, 2012, p. 57). En la ciudad de Cuenca, el tumor de células mastocíticas fue el 2.17% (n=1/14) (Ortiz y Quito, 2013, p. 86). En la ciudad de Quito, el porcentaje de casos de mastocitoma fue de 16,67% (n=2/11) (Cevallos, 2013, p. 35).

2. CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1 Neoplasias cutáneas

Durante varias décadas el campo oncológico ha avanzado notablemente. Estudios antiguos en caninos las tasas de incidencias de neoplasias benignas como malignas ha reportado estadísticamente que la presencia de tumores malignos es más común (Miller et al., 2013, p. 774).

En el perro la piel es la región con mayor predisposición a presentar neoplasias, llegando hasta un 30% de tumor, de los cuales se categorizan en 55% mesenquimales, 40% epiteliales y 5% melanocíticos. Los tumores cutáneos más frecuentes en la especie canina son el lipoma, hiperplasia de las glándulas sebáceas, mastocitoma, histiocitoma y papiloma. (Miller et al., 2013, p. 774). De la misma manera lo menciona (Henry, 2010, p. 300) presentando el porcentaje de frecuencia de tumores cutáneo en caninos (Ver Tabla 1).

Tabla 1: Frecuencia de tumores cutáneos en caninos.

TIPO TUMOR	FRECUENCIA %
Histiocitoma	12%
Adenoma perianal	12%
Mastocitoma	10%
Lipoma	8%
Hemangiopericitoma	7%
Adenoma sebáceo	4%
Tricoepitelioma	4%
Hemangioma	4%
Tumor melanocítico	4%
Tumor de células basales	4%
Fibroma	2%

Fuente: (Henry, 2010, p. 300)

Tabla 1

Frecuencia de tumores cutáneos en caninos. (Continuación)

Fibrosarcoma	2%
Carcinoma de células escamosas	2%
Epitelioma intracutáneo	2%
Plasmocitoma	1%
Pilomatricoma	1%
Linfoma	1%
Hemangiosarcoma	1%
Papiloma	<1%
Carcinoma de células basales	<1%
Carcinoma de glándula apócrina	<1%

Tomado de Henry, 2010, p. 300

Al encontrar una casuística alta en el ámbito veterinario, la OMS, en el año de 1966, reunió a investigadores especialistas en oncología para trabajar en la elaboración de una clasificación internacional histológica de tumores en animales domésticos en comparación con tumores en la especie humana. Esto se realizó con el objetivo de establecer una base sólida para la oncología veterinaria, brindando una nomenclatura estándar con el fin de avanzar en patología animal (Mohamed, 2006, p. 2)

En 1974, clasificaron internacionalmente los tumores de los animales domésticos. En 1998, se publicó una nueva edición de la clasificación histológica de tumores de partes blandas con nuevas entidades y nomenclaturas (Mohamed, 2006, p. 2)

Estudios realizados en Alemania por el Institute of Veterinary Pathology, entre 1950 y 1958, determinaron que ciertas razas eran predisponentes a presentar neoplasias cutáneas, sin embargo, en el año 2001 se señalaron que las razas predisponentes a tumores cutáneos son las mismas de resultados anteriores y entre las razas encontramos mestizos, Pastor Alemán, Dachshund, Poodle, Bóxer, Cocker Spaniel, Schnauzer, Yorkshire Terrier, Retriever, Rottweiler y Doberman (Mohamed, 2006, p. 3).

2.2 Mastocitoma

Etiología, epidemiología, presentación clínica, diagnóstico y tratamiento.

2.2.1 Etiología

El mastocitoma cutáneo es un tumor maligno originado en los mastocitos residentes de los tejidos conectivos, dichas células se originan a partir de las células precursoras del linaje mielomonocítico en la médula ósea y posteriormente son distribuidos por todo el cuerpo. Los mastocitos maduros contienen gránulos citoplasmáticos que almacenan mediadores químicos de la respuesta inflamatoria como la histamina, proteasas, factores quimiotácticos, citocinas y metabolitos del ácido araquidónico. La liberación extracelular de estos mediadores se pueden precipitar debido a factores físicos (calor, trauma), químicos (toxinas) o mecanismos inmunológicos como inmunoglobulina E específica de Ag IgE que se unen a los receptores de IgE en la superficie celular. Los mastocitomas interfieren en el sistema inmunológico jugando un papel fundamental en las reacciones alérgicas, inflamatorias e inmediatas (Dobson y Scase, 2007, pp. 424 y 425).

Son proliferaciones dérmicas nodulares, focales o multifocales, frecuentes en los perros (Grant, 2007, p. 771). Las células cebadas poseen gránulos citoplasmáticos de color púrpura que oscurecen el detalle nuclear, el núcleo es central. Se consideran criterios de malignidad a la anisocitosis, anisocariosis, multinucleaciones y figuras mitóticas. Los mastocitos pleomórficos pueden poseer escasa o nula granulación. El tamaño nuclear es distinto y son lobulados. En los caninos esta neoplasia puede estar acompañada de variable cantidad de exudado eosinofílico junto con fibroblastos reactivos y bandas gruesas de colágeno (Withrow et al., 2013, p. 126).

2.2.2 Epidemiología

Los mastocitomas son neoplasias de carácter altamente invasivo y metastásico, epidemiológicamente es uno de los tumores cutáneos más

frecuentes en caninos domésticos, comprendiendo el 16-21%, de los cuales el 27% son malignos (Hosseini et al., 2014, p.1).

Según Cartagena (2011, p. 103), existen ciertas razas predispuestas a padecer esta patología como el Bóxer, Boston Terrier, Bullmastiff, Bulldog, Setter Inglés, Labrador, Golden Retriever, Teckel, Beagle y Weimaraner. En cuanto al sexo, no hay predisposición, sin embargo, la edad es un factor que influye mucho, puesto que existe mayor frecuencia de casos en caninos mayores que en jóvenes, aunque no se descarta la posibilidad de la presencia del tumor en perros jóvenes. Estudios recientes indican que una razón por la que se presentan este tipo de neoplasias es por una falla en el receptor c-kit o receptor de las glándulas primordiales, pero cabe recalcar que no todos los perros poseen este receptor (Cartagena, 2011, p. 103).

2.2.3 Presentación clínica

La mayoría de mastocitomas son masas únicas, pero en el 15% de los casos aparecen de forma múltiple (Ríos, 2008, p.136). Aparecen masas cutáneas o subcutáneas en cualquier zona del cuerpo, pueden ser similares a cualquier lesión dermatológica primaria o secundaria, como por ejemplo: mácula, pápula, nódulos, entre otros. Al ser una patología altamente invasiva la metástasis ocurre cuando los nódulos linfáticos se ven afectados y diseminan la enfermedad a órganos vitales como hígado, bazo y médula espinal (Couto y Moreno, 2013, p. 72).

Como menciona Miller et al (2013, p. 806), este tipo de neoplasias se distribuyen en el cuerpo de la siguiente manera: 50% en tronco, 40% en extremidades y 10% en cabeza. Se ha reportado cierta relación de la raza con la ubicación anatómica como es el caso del Boxer, Boston Terrier y Pug, teniendo predilección en extremidades posteriores; Rhodesin Ridgeback, en la cola; Weimaraner distribuido por todo el cuerpo con múltiples lesiones y Setter

Inglés en la cabeza y las extremidades posteriores; mientras que en Sharpei causa distensión y deformidad en extremidades posteriores.

2.2.3.1 Signos clínicos

Se presenta comúnmente como una sola masa cutánea con ligera elevación, de consistencia firme, definida y, en ocasiones puede ser eritematosa, alopecica y/o ulcerada, con poca definición y de consistencia suave comprometiendo el tejido subcutáneo; sin embargo, a veces suele confundirse con otras neoplasias, por lo que solo será diferenciada por estudios citológico e histopatológicos (Álvarez, 2011, p. 1).

Debido a la liberación de histamina, heparina y otras sustancias vasoactivas, ciertos pacientes presentan signología gastroentérica como anorexia, emesis, náuseas, dolor abdominal, anemia microcítica e hipocrómica (Álvarez, 2011, p. 1).

Las coagulopatías están asociadas a la liberación de heparina por parte de los mastocitos, provocando hemorragias y notorio retraso en la cicatrización (Cartagena, 2011, p. 105).

El mastocitoma visceral en bazo, ocupa el primer lugar con el 25-26% de las enfermedades esplénicas, en segundo lugar ocupa el tracto digestivo siendo la tercera forma de neoplasias intestinales comunes en animales domésticos y por último el hígado con pocos casos reportados. Debido a la agresividad de este tumor los desenlaces son fatales y un pronóstico de vida del paciente es crítico (Bahrami et al., 2014, p. 2).

2.2.4 Diagnóstico

Citología, histopatología: toma de muestra, criterios de malignidad, gradificación histopatológica, otros métodos diagnósticos y exámenes complementarios.

2.2.4.1 Citología

Estos tumores son las únicas lesiones que producen predominancia de mastocitos, los cuales son reconocidos por sus distintivos gránulos pequeños en el citoplasma de color rojo-púrpura, en tinciones Giemsa y Diff Quick. En ocasiones las células están tan compactadas de gránulos en el citoplasma que hace difícil su identificación, debido a la lisis celular (Cowell et al., 2014, p. 28). Otra observación es la presencia de un infiltrado más o menos intenso de leucocitos polimorfonucleares y eosinófilos. Cuando las células no están bien diferenciadas se pueden generar confusiones con otras posibles neoplasias de células redondas o melanoma (Cartagena, 2011, p. 106).

Si bien la citología es un método de diagnóstico apto para este tipo de tumor es necesario complementarlo con un histopatológico para poder determinar la malignidad con más exactitud, así como con un chequeo complementario de nódulos linfáticos regionales (Cowell et al., 2008, p. 38).

2.2.4.2 Histopatología

En histología los tumores de células cebadas se caracterizan por la proliferación de mastocitos. Hallazgos frecuentes en esta neoplasia son la eosinofilia tisular, degeneración de fibras de colágeno y alteraciones vasculares.

2.2.4.2.1 Toma de muestra

Para poder realizar el estudio histopatológico se necesita muestras obtenidas mediante biopsia incisional y excisional

- **Biopsia incisional**

Este proceso es utilizado para obtener secciones de tejido incompleto mediante sacabocados (Ackerman, 2008, p. 473).
(Ilustración 1)



Figura 1: Biopsia incisional realizado con un sacabocado (“punch”). Tomado de Hlinica, 2011, p. 34

- **Biopsia escisional**

Este procedimiento es utilizado en lesiones donde se puede realizar la resección completa de la masa, obteniéndose amplios márgenes en “ojo de pájaro” y un plano facial por debajo del tumor (Ogilvie y Moore, 2008, pp. 79 y 80).

2.2.4.2.2 Criterio de malignidad celular (Cowell et al., 2008, pp. 39-41)

Anisocitosis y macrocitosis.- anisocitosis se refiere a la variación de tamaño celular mientras que macrocitosis son células extremadamente grandes. Es importante la experiencia en la identificación de un elevado grado de anisocitosis y macrocitosis, ya que cierto grado de anisocitosis es normal en cualquier población celular.

Hipercelularidad.- Los tumores malignos tienden a producir un alto número de células de la cantidad normal, por lo que es importante corroborar con una muestra de tejido y descartando lesiones inflamatorias y tejido linfoide.

Anisocariosis.- Células con núcleos de diferente tamaño.

Pleomorfismo.- Variación de la forma y tamaño nuclear.

Macrocariosis.- Aumento del tamaño nuclear.

Multinucleación.- Múltiples núcleos en una célula con diferente tamaño.

Aumento de figuras mitóticas.- Mitosis es raro en tejido normal.

Mitosis anormal.- Alineación incorrecta de cromosomas.

Patrón de cromatina gruesa.- La cromatina es más gruesa de lo normal, puede aparecer en forma de cuerda o viscosa.

Moldeo nuclear.- Deformación de los núcleos por otros núcleos de la misma célula o células adyacentes.

Macronucléolos.- Aumento del nucléolo en tamaño ($\geq 5\mu\text{m}$).

Nucleólos angulares.- Nucléolos fusiformes o con formas angulares en lugar de su forma redonda normal a ligeramente ovalada.

Anisonucleosis.- Variación en la forma o el tamaño nucleolar.

2.2.4.2.3 Gradificación histopatológica

La gradificación del mastocitoma se basa en la morfología histológica, ya que de esto dependerá un posible tratamiento y pronóstico del paciente. Existen varios métodos de gradificación de varios autores como Bostock (1973, 1989), Patnaik (1984), Murphy (2004), Simoes (1994) y actualmente una nueva de Kiupel (2011). Tomando en cuenta que la gradificación más utilizada es la de los autores Patnaik y Kiupel. (Withrow et al., 2013, p. 338)

Gradificación Patnaik (1984)

“Tres grados, I, II y III”

Cuadro 1: Gradificación Patnaik.

	GRADO I	GRADO II	GRADO III
Diferenciación	Buena	Intermedio	Pobre
Celularidad	Baja	Intermedia	Alta
Células	Uniformes	Anisocitosis moderada	Anisocitosis Marcada
Células Gigantes	Ninguno	Pocos	Frecuentes
Pleomorfismo	Ninguno	Moderado	Común
Gránulos citoplasmáticos	Muy visibles	Visibles	Poco visible
Núcleo	Uniforme	Anisocariosis	Anisocariosis
Mitosis	Ninguno a poco	Moderado	Numeroso

Adaptado de Patnaik et al., 1984, pp.473-474)

Gradificación Kiupel (2011)

“Dos Grados: bajo y alto”

La gradificación histopatológica es la herramienta principal de los patólogos veterinarios para la determinación del comportamiento biológico de las células tumorales. Métodos anteriores tenían tres grados que variaban según el criterio del autor, más aún, si se refería al tumor de células mastocíticas, teniendo como resultados frecuentes grado intermedio. Es por esta razón, que un método que contenga dos grados era la solución a la variación de criterios y de esta manera ser más apropiada y de mayor utilidad en el ámbito clínico, eliminando la ambigüedad de mastocitomas de grado intermedio (Kiupel et al., 2011, p.147 y 153).

Este nuevo método de gradificación considera que para ser grado alto debe cumplir con criterios específicos como: figuras mitóticas, células multinucleadas, núcleos anormales y cariomegalia en 10 campos escogidos aleatoriamente (Kiupel et al., 2011, p.149).

2.2.4.3 Otros métodos Diagnósticos

Ki67 Inmunohistoquímica.- Es una proteína nuclear que se expresa en todas las fases del ciclo celular, pero no está presente en células acíclicas. El número

relativo de células Ki67 positivas se utiliza para determinar el índice proliferativo y crecimiento celular. En el mastocitoma la expresión de este factor se asocia a un aumento de mortalidad, tasa de recidiva local y metástasis, por esta razón es utilizado como marcador pronóstico del mastocitoma (Vascellari et al., 2012, p.111)

BCL-2. Inmunohistoquímica- Es una proteína que juega un papel importante en la regulación de la supervivencia celular y apoptosis. La expresión de esta proteína puede predisponer a la acumulación aberrante de células. Se ha demostrado que una alta expresión esta correlacionada con la resistencia a la quimioterapia, así también permite que las células vivan más tiempo y por lo tanto existe alteración genética (Vascellari et al., 2012, p. 111)

C-KIT.- Este proto-oncogén codifica un receptor tipo quinasa transmembrana III (receptor del factor de células madre, o KIT). El ligando del kit, factor de células madre, es una citocina que estimula el crecimiento de los mastocitos y su diferenciación. Su diagnóstico se basa en la presencia aberrante de este kit (Reguera et al., 2000, p.49)

2.2.4.4 Exámenes complementarios

Es fundamental complementar el grado de la enfermedad mediante el estudio frecuente de ganglios linfáticos, hemogramas, bioquímicas sanguíneas, urianálisis, radiografía y ecografía. Si se identifica la presencia de metástasis en los exámenes anteriores, se recomienda realizar una biopsia de los órganos afectados (Cartagena, 2011, pp. 106 y 107).

2.2.5 Estadificación clínica de acuerdo a los criterios de la Organización Mundial de la Salud (OMS)

Desde 1995, la Asociación Europea de Patólogos y la Sociedad de Hematopatología (SH) han desarrollado una nueva clasificación según la OMS sobre neoplasias malignas hematológicas; que incluye linfóide, mielóide, histiocítico, y tumores de mastocitos. El objetivo principal es que mediante un

estudio clínico macroscópico de la neoplasia, se pueda determinar la etapa en la que esta se encuentra y así facilitar el progreso en la comprensión y/o tratamiento (Harris et al., 1999, p. 1419).

La clasificación de la OMS se basa en un enfoque clínico en el cual discrimina entre mastocitosis sistémica de una cutánea y de mastocitosis sistémica de un aumento reactivo de células mastocíticas. El criterio principal es la determinación del estadio del tumor por medio de la identificación de una masa compacta o multifocal, infiltrativa y con posible metástasis con presencia de signos sistémicos (Valent et al., 2004, p. 4).

2.2.6 Tratamiento

Este tumor puede ser tratado quirúrgicamente, mediante quimioterapéuticos y radioterapia. Todo depende del grado de diferenciación histológica, en este caso será por gradificación según Kiupel (2011).

Grado I (Couto y Moreno, 2013, p.74)

En este grado el tratamiento quirúrgico es la mejor elección, se recomienda hacer la incisión de 2-3 cm del borde de la masa hacia el exterior. Por lo general, no suele presentarse recidivas.

Si la masa es infiltrativa, de gran tamaño o se ubica en una zona de difícil acceso se puede aplicar tres posibles tratamientos:

- Quirúrgico
- Radioterapia
- Quimioterapia acompañado con prednisona y lomustina
Prednisona 2mg/kg VO por una semana.
Prednisona 1mg/kg VO/48h y Lomustina CCNU 60mg/m2
VO/3semanas.
Antihistamínico 0,5mg/kg VO/24h

Sucralfato 1mg/25kg VO/8h (sangrado gastrointestinal.)

Grado II (Álvarez, 2011, p. 1)

- Quirúrgico como tratamiento local
- Radioterapia como tratamiento local
- Quimioterapia o inhibidores de proteínas como adyuvantes a los dos tratamiento anteriores

La resección quirúrgica es el tratamiento de elección de médicos veterinarios, sin embargo, en zonas de difícil localización o muy infiltrantes se requiere de otros tratamientos como radioterapia externa, braquiterapia interna, terapia fotodinámica, corticoides, crioterapia y agua desionizada (Carlsten et al., 2012, p. 2).

3. CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

3.1 Diseño del estudio

Esta investigación fue un estudio de tipo descriptivo. Para la selección de los individuos, se aplicó un muestreo de casos consecutivos de pacientes caninos con mastocitoma cutáneo, identificados mediante los métodos de diagnóstico, citológico e histopatológico durante un periodo de 6 meses (enero 2016 – junio 2016).

3.2 Ubicación geográfica y/o urbana

Las muestras de estudio fueron remitidas de diferentes clínicas veterinarias pertenecientes a la zona norte del Distrito Metropolitano de Quito, ubicado a 2850 msnm. El diagnóstico citológico e histopatológico se realizó en la Clínica Veterinaria de la Universidad De Las Américas, Quito.

3.3 Características de la unidad experimental

Los criterios de inclusión fueron: casos positivos a mastocitoma cutáneo, diagnosticado por medio de la citología e histopatología, de pacientes cuyos propietarios accedan al estudio, en el periodo entre enero y junio de 2016.

Los criterios de exclusión fueron: casos negativos a mastocitoma cutáneo, diagnosticado por medio de la citología e histopatología, de pacientes cuyos propietarios accedan al estudio, en el periodo entre enero y junio de 2016.

3.4 Materiales y métodos

Caninos muestreados

Durante el estudio se llegó a recolectar un total de 206 muestras, entre citología (n=61/206) e histopatología (n=145/206) de masas cutáneas de caninos.

El proceso de diagnóstico se llevó a cabo en cinco pasos:

Recopilación de ficha clínica

1.- El primer paso consistió en llenar una ficha clínica (Anexo 1), que incluía los datos generales del paciente, anamnesis y examen clínico; es importante mencionar que se consideró la edad, raza, sexo y ubicación anatómica del tumor, del mismo modo se valoró las características macroscópicas de la masa tomando en cuenta el tamaño, número, forma, eritema, presencia de úlceras, alopecia y edema (Meuten, 2002, p.105).

Toma de muestras

2.- Se realizó la evaluación citológica de 61 casos de muestras de masas cutáneas, por punción aspiración con aguja delgada, se utilizó tinción Diff - Quick®; se identificó 16 casos positivos a mastocitoma. Las muestras fueron procesadas en las instalaciones de la Clínica Veterinaria de la Universidad de las Américas y analizadas conjuntamente con el patólogo responsable.

Es importante mencionar que la toma de muestras citológicas fue realizada por el tesista y en otros casos por los médicos veterinarios siguiendo el método descrito a continuación.

- **Punción aspiración con aguja fina**

Este procedimiento se lo realizó bajo el protocolo de Cowell et al. (2008, p.8), siendo este probablemente el mejor método general para el muestreo de masas o lesiones proliferativas. Para la preparación de la toma de muestras, se procedió a realizar la triconomía del área y la desinfección con alcohol. Se estabilizó la masa con una mano mientras que con la otra se introdujo una aguja de calibre 22 x 1 ½, hay que observar que el capuchón no se llene de sangre para evitar contaminación, y se movió la aguja de afuera hacia adentro sin sacarla de la masa. Después de tomar la muestra, se colocó la aguja con el

bisel hacia abajo para expulsar la muestra sobre la placa. Para el deslizamiento en la placa, se lo hace con el borde de otra laminilla y con una inclinación de 45° se trae hacia atrás y luego hacia adelante, igual que un frotis sanguíneo.

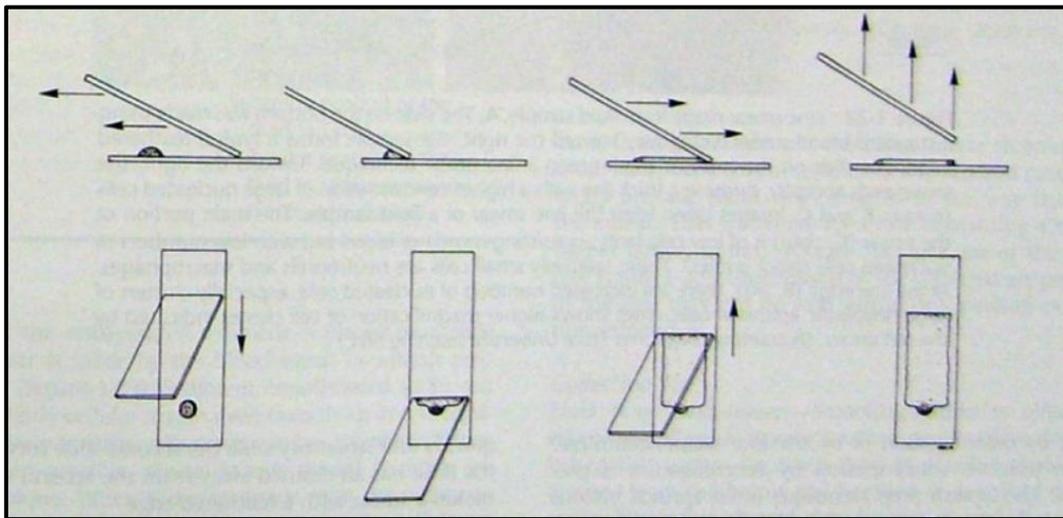


Figura 2: Procedimiento de la técnica de deslizamiento de la muestra en la placa. Tomado de Cowell et al. (2008, p.11)

Para la tinción se utilizó Diff Quick®. Se sumergió durante 1 minuto en el fijador (metanol), a continuación 1 minuto más en la solución de eosina (eosinofílica), otro minuto en la solución de Tiazina (basofílica) y por último se lavó con agua corriente. Se secó durante 30 minutos y se observó en el microscopio.

3.- El estudio histopatológico se realizó a pacientes cuyos propietarios autorizaron la biopsia (escisional o incisional). Los médicos veterinarios remitieron 145 muestras de lesiones proliferativas en piel, las mismas que fueron colocadas en frascos plásticos, membretados con marcadores indelebles y sumergidos en formol al 10%. Se identificaron 24 casos positivos a mastocitomas. El procesamiento macroscópico empezó con la etiquetación del casete plástico de histología con el número respectivo de cada muestra, la

evaluación, medición y corte de la pieza quirúrgica, así como la toma de fotografías antes del corte (Ilustración 12 y 13). Para el corte se sujetó la masa con una mano o una pinza y con una cuchilla desechable para micrótopo se cortó en sentido al crecimiento del pelo; el corte debía ser limpio con movimientos de atrás hacia adelante (no por aplastamiento). Se seleccionó los fragmentos representativos, los cuales fueron fotografiados (Ilustración 14 y 15), colocados en el casete plástico y en formol al 10%, para enviarlos a un laboratorio externo. El análisis histopatológico se realizó en la Clínica Veterinaria UDLA conjuntamente con el patólogo responsable.

- **Análisis histopatológico**

Se valoró microscópicamente las muestras, observando la distribución y morfología celular para determinar si es mastocitoma y su gradificación, así también se observó los bordes quirúrgicos (para valorar infiltración tumoral). Para este estudio se tomó de referencia la gradificación de Kiupel (2011). (Ilustración 8, 9, 10 y 11)

Criterio gradificación. (Kiupel et al., 2011, p.149)

Para que un tumor de células mastocíticas sea considerado de alto grado debía cumplir con los siguientes criterios en 10 campos aleatorios con el objetivo 40x (Tabla 2):

- Al menos 7 figuras mitóticas
- Al menos 3 células multinucleadas (3 o más núcleos)
- Al menos 3 núcleos anormales (altamente atípicos con hendiduras marcadas, segmentadas y de forma irregular)
- Cariomegalia (diámetros nucleares de al menos 10% de las células mastocíticas)

Tabla 2: Análisis histopatológico de Toby, Schnauzer, 9 años masa en muslo derecho

Campo	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Mitosis	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0
Características de Malignidad	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Observaciones	No existe margen quirúrgico Células adyacentes al borde quirúrgico Infiltración al panículo adiposo									
RESULTADO	Bajo									

Nota: De los 40 pacientes positivos a mastocitoma, entre citología (n=16) e histopatología (n=24) solo se logró recopilar 32 fichas clínicas completas.

Estadificación clínica

4.- Se procedió a realizar la estadificación clínica según el criterio de la OMS para el mastocitoma cutáneo. (Tabla 3)

TABLA 3: Estadificación de OMS para el Mastocitoma cutáneo.

ETAPA	DESCRIPCIÓN	SI/NO
O	Tumor incompleto extirpado en la dermis, identificado histopatológicamente, sin implicación de linfonodo regional 1. Sin signos sistémicos 2. Con signos sistémico	
I	Tumor confinado en la dermis sin implicación del linfonodo regional 1. Sin signos sistémicos 2. Con signos sistémico	
II	Tumor confinado en la dermis con implicación del nódulo regional 1. Sin signos sistémicos 2. Con signos sistémico	

TABLA 3: Estadificación de OMS para el Mastocitoma cútaneo.

III	Múltiples tumores dérmicos, tumores infiltrantes con o sin implicación del linfonodo regional. 1. Sin signos sistémicos 2. Con signos sistémico
IV	Cualquier tumor con metástasis distante, incluyendo sangre o implicación de la médula ósea.

Adaptado de Withrow et al. (2013, p.340)

Estudio estadístico y analítico

5.- Para el análisis estadístico, se seleccionaron las pruebas de:

1) Regresión logística para analizar las relaciones entre las variables dependientes e independientes, este método permite modelar la influencia de la probabilidad de ocurrencia de un evento en presencia de diferentes variables que pueden ser: Dicotómicas, categóricas y cualitativas nominales u ordinales, tipo de variables que concuerdan con las variables medidas en este estudio.

El análisis realizado con la regresión logística presenta varias ventajas frente a otras técnicas no paramétricas como el X², ya que la regresión logística permite analizar poblaciones más pequeñas. En comparación de la prueba exacta de Fisher, la regresión logística permite analizar más de una variable y la relación entre las mismas lo que no es posible con la prueba de Fisher, y finalmente, comparada con la prueba de ANOVA, la regresión logística permite analizar no solo cual es la variable con influencia significativa, sino que también permite dar un coeficiente a la variable para saber el grado de influencia en la probabilidad de ocurrencia del suceso estudiado.

2) Regresión lineal simple y coeficiente de correlación para identificar si existe una relación entre variables cuantitativas como la relación entre la edad y el número de lesiones.

Adicional a esto, el estudio analítico se comparó mediante tablas de frecuencia y porcentaje con los resultados obtenidos en el muestreo.

Para la valoración de las variables raza, edad, sexo y ubicación anatómica se dividieron en 4 grupos:

Primer grupo: Pacientes positivos a mastocitoma cutáneo por citología con sus respectivas variables.

Segundo grupo: Pacientes positivos a mastocitoma cutáneo diagnosticado por histopatología con sus respectivas variables y gradificación según Kiupel (2011).

Tercer grupo: Todos los pacientes positivos a mastocitoma cutáneo diagnosticados por citología e histopatología, que se realizaron examen clínico, identificando lesiones macroscópicas del tumor.

Cuarto grupo: Todos los pacientes positivos a mastocitoma cutáneo (n=32) diagnosticados por citología e histopatología y estadificados según la OMS.

Para la variable edad se consideraron tres grupos:

- Cachorros: pacientes menores a 1 año.
- Adultos: pacientes entre 2 a 7 años,
- Gerontes: pacientes mayores a 8 años.

Para el sexo se consideró macho y hembra independientemente si estaban esterilizados o no.

3.5 Hipótesis

Se propuso dos hipótesis en donde se pretendió demostrar estadísticamente si existe o no relación entre las variables edad, sexo, raza y ubicación anatómica.

Hipótesis nula: La variable (edad, sexo, raza y/o ubicación anatómica) no está asociada a la presentación de mastocitoma.

Hipótesis alterna: Las variable (edad, sexo, raza y/o ubicación anatómica) está asociada a la presentación de mastocitoma.

3.6 Limitaciones

Las limitantes para este estudio se relacionaron con la falta de remisión de casos por parte de las clínicas veterinarias, lo que generó un grupo muestral pequeño y no permitió demostrar relaciones estadísticamente significativas, además de que no se respetaron las indicaciones y el protocolo.

4. CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

ANÁLISIS ESTADÍSTICO Y ANALÍTICO

4.1 Primer grupo – Citología

Se recibieron 61 muestras de tumores cutáneos de los cuales 26.22% (n=16/61) fueron positivas para mastocitoma. La estadística, en cuanto a la raza edad, sexo y ubicación anatómica no determinó una relación significativa para el tumor en estudio (Anexo 3).

- Raza

En la tabla 4 se observa que existen tres razas predominantes, Bóxer 25% (n=4/16), Mestizo 25% (n=4/16) y Golden Retriever 12.5% (n=2/16), por lo que, en este caso representan cuantitativamente un valor significativo que determina que estas razas están relacionadas con la presencia de mastocitoma. Shoop et al. (2015, p. 2) realizaron estudios comparativos entre caninos de raza mestiza y raza específica en donde encontraron que el Bóxer, Golden Retriever y razas grandes son más predisponentes a tener este tumor que razas pequeñas. A pesar de que estadísticamente esta variable no tiene relación con el tumor, en la tabla de frecuencia se observa que los resultados obtenidos en esta investigación coinciden de cierta manera con la literatura en cuanto a la raza Bóxer, mientras que en Mestizo no; sin embargo, hay que tomar en cuenta que en el Ecuador la presencia de perros mestizo es mayor que perros de raza, por lo que la probabilidad de la presencia de tumores en razas mestizas es más frecuente.

Tabla 4: Cuantificación de la variable raza en pacientes positivo diagnosticado por citología.

Raza	Frecuencia N=16	%
Bóxer	4	25
Mestizo	4	25
Golden Retriever	2	12.5
Beagle	1	6.25
Labrador	1	6.25
Pitbull	1	6.25
Doberman Pincher	1	6.25
Schnauzer	1	6.25
Shar pei	1	6.25
Total	16	100

- Edad

En la tabla 5 se percibe que el grupo de caninos gerontes predomina con el 56,25% (n=9/16) de los casos y el grupo de caninos adultos se ubica después con un porcentaje de 37.5% (n=6/16) y en último lugar los cachorros con el 6.25% (n=1/16). Blackwood et al. (2012, p.4) mencionan que usualmente este tumor es común en perros mayores a 9 años y ocasionalmente por debajo del año de edad, específicamente en Shar-Pei. Por otro lado Donnelly et al. (2013, p.3) encontraron que el promedio de edad fue de 8.85 años es decir adultos mayores. Por lo que existe concordancia cuantitativa en que los caninos adultos y gerontes pertenecen al grupo de susceptibilidad de este tumor.

Tabla 5: Cuantificación de la variable edad en pacientes positivos diagnosticados por citología

Edad	Frecuencia	%
	n=16	
Cachorros (< 1 año)	1	6.25
Adultos (2 – 7 años)	6	37.5
Gerontes (> 8)	9	56.25
Total	16	100

- Sexo

En la tabla 6 se observa que en cuanto al sexo los machos representan el 62.5% (n=10/16) de los casos y las hembras el 37.5% (n=6/16) lo que quiere decir que la frecuencia cuantitativa de este tumor en machos es mayor. De la misma manera menciona Bronden et al. (2010, p. 3) en su investigación (n=765) donde el 52% (n=398/765) de pacientes fueron machos mientras que 48% (n=367/765) hembras. Aunque en los dos casos no hay mucha diferencia en porcentaje se demuestra que la presencia del mastocitoma tiene predominancia en caninos machos, independientemente del número de pacientes totales que se obtuvieron en los dos estudios.

Tabla 6: Cuantificación de la variable sexo en pacientes positivo diagnosticados por citología

Sexo	Frecuencia	%
	N=16	
Macho	10	62.5
Hembra	6	37.5
Total	16	100

- Ubicación anatómica

En cuanto a la ubicación anatómica se identificó con mayor frecuencia afección del muslo, con el 37.5% (n=6/10), vulva con el 12.5% (n=2/16); oreja con el 12.5% (n=2/16); tórax, ingle, pecho, glándula mamaria, linfonodo y zona no registrada con el 6,25% (n=1/16). Investigaciones realizadas por Miller (1995, pp. 360 y 361) encontraron mayor presencia de este tumor en glándula mamaria y escroto seguido de tórax y zona inguinal; de igual manera resultados de investigaciones realizadas por Warland et al. (2015, p.315) identificaron tumores mastocíticos en la boca, muslo, zona perianal y escroto. Por lo que si bien estadísticamente el muslo no es una zona significativa, cuantitativamente lo es.

A pesar de que en la bibliografía mencionada se encontró la existencia del tumor en muslo, en otras zonas también coincide, aunque en este caso en menor frecuencia.

Tabla 7: Cuantificación de la variable ubicación anatómica en pacientes positivos diagnosticados por citología

Ubicación Anatómica	Frecuencia N=16	%
Muslo	6	37.5
Oreja	2	12.5
Vulva	2	12.5
Ingle	1	6.25
Tórax	1	6.25
Pecho	1	6.25
Glándula Mamaria	1	6.25
Linfonodo	1	6.25
NR	1	6.25
Total	16	100

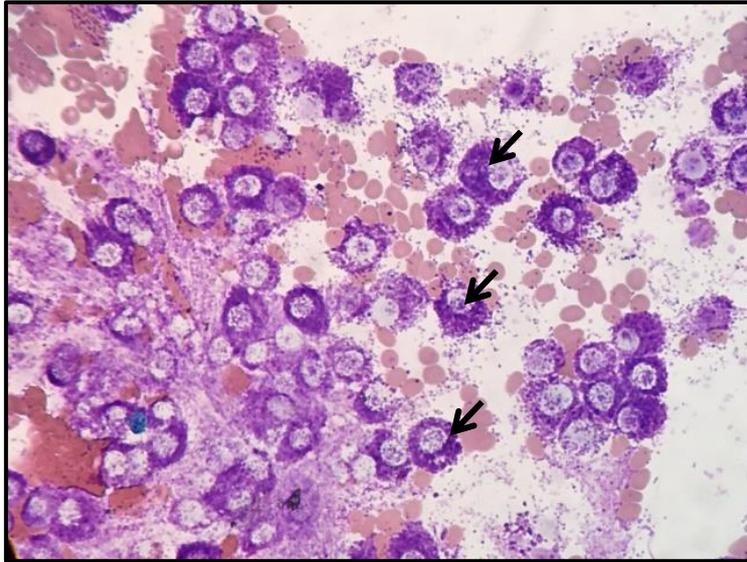


Gráfico 3: Citología por aspiración por punción de aguja fina con tinción Diff Quick® 40x. Se observa células mastocíticas con presencia de gránulos basofílicos en citoplasma basofílicos. **Autor:** Dr. Julio Ortiz y Ana Paredes

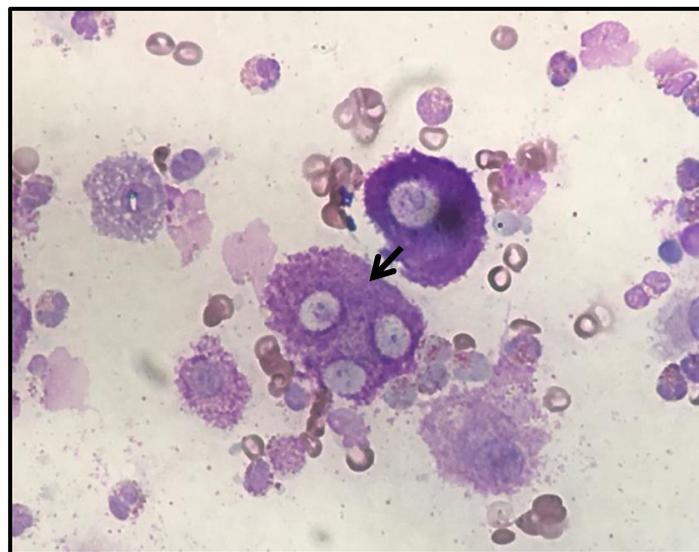


Gráfico 4: Citología por aspiración por punción de aguja fina con tinción Diff Quick® 100x. Se observa células mastocíticas con presencia de gránulos basofílicos. **Autor:** Dr. Julio Ortiz y Ana Paredes

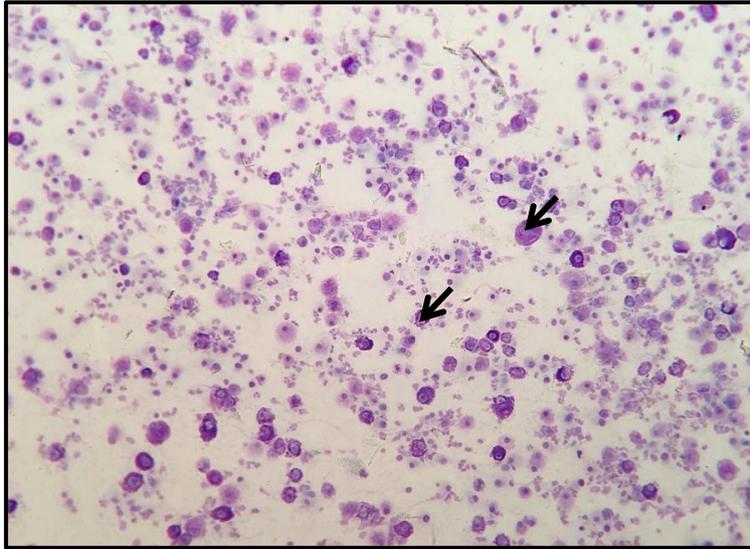


Gráfico 5: Citología por aspiración por punción de aguja fina con tinción Diff Quick® 40x. Se observa células mastocíticas con presencia de gránulos basofílicos. **Autor:** Dr. Julio Ortiz y Ana Paredes

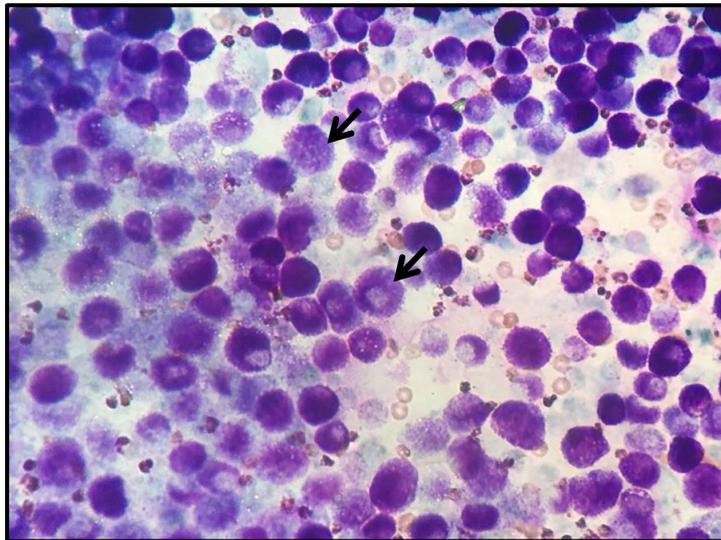


Gráfico 6: Citología por aspiración por punción de aguja fina con tinción Diff Quick® 40x. Se observa células mastocíticas con presencia de gránulos basofílicos. **Autor:** Dr. Julio Ortiz y Ana Paredes

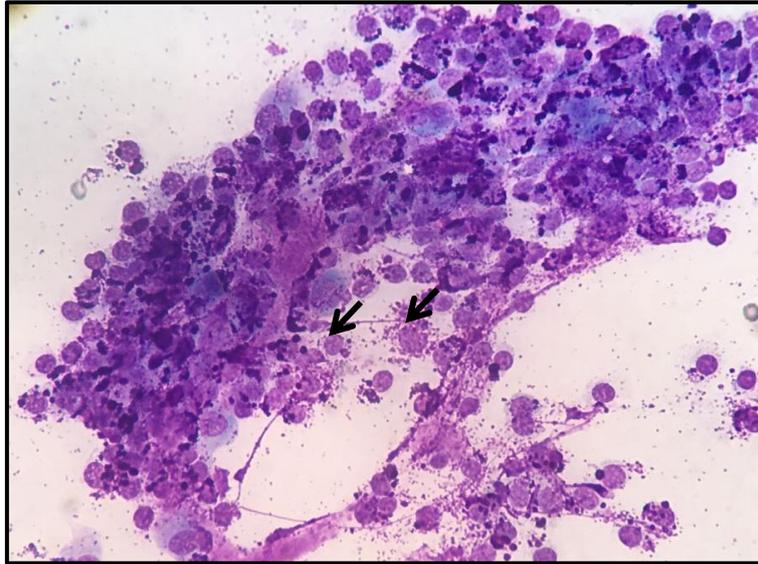


Gráfico 7: Citología por aspiración por punción de aguja fina con tinción Diff Quick® 40x. Se observa moderada celularidad mastocítica, levemente pleomorficos y con gránulos disueltos.

Autor: Dr. Julio Ortiz y Ana Paredes

4.2 Segundo grupo – Histopatología

Para el diagnóstico histopatológico se recibieron 145 neoplasias cutáneas de los cuales el 16.55% (n=24/145) de los casos fueron positivos a mastocitoma. Al estudiar la variable ubicación anatómica se encontró que hay relación significativa entre el muslo y la presencia del tumor de células mastocíticas con p valor de 0.05 (Anexo 4), mientras que para el resto de valores no se encontró relación significativa.

- Raza

En la tabla 8 se encontró que la raza mestiza presenta un valor significativo en la presencia del mastocitoma con el 25% (n=6/24). Estudios realizados

por Taney y Smith (2009, p. 35) mencionan que el 20 a 25% de razas braquiocefálicas como Bóxer, Boston Terrier, Bull Mastín y Bulldog Inglés son propensos a presentar mastocitoma. La literatura y esta investigación no son compatibles.

Tabla 8: Cuantificación de la variable raza en pacientes positivo diagnosticado por histopatología

Raza	Frecuencia N=24	%
Mestizo	6	25
Golden Retriever	3	12.5
Pitbull	3	12.5
Labrador	2	8.33
Schnauzer	2	8.33
Cocker Spaniel	2	8.33
Castellano	1	4.17
Shar Pei	1	4.17
Doberman Pincher	1	4.17
Basset Hound	1	4.17
Jack Russel	1	4.17
NR	1	4.17
Total	24	100.01

- Edad

En la tabla 9 se presenta dos grupos representativos; adulto y geronte, con porcentaje 54.16% (n=13/24) y 45.83% (n=11/24) respectivamente, lo que significa que cuantitativamente no es significativa la presencia del tumor con la edad. Estudios realizados por Murphy et al. (2004, p. 744) encontraron perros diagnosticados histologicamente con el tumor desde los cuatro meses hasta 14 años, de los cuales, el 91% eran mayores a cinco años, lo que demuestra que el mastocitoma está presente en pacientes adultos y gerontes. Como se encontró en esta tesis y en la literatura.

Tabla 9: Cuantificación de la variable edad en pacientes positivo diagnosticados por histopatología

Edad	Frecuencia n=24	%
Cachorros (<1)	0	0
Adultos (2 – 7)	13	54.16
Gerontes (> 8)	11	45.83
Total	24	99.99

- **Sexo**

Los datos obtenidos en la variable sexo que presentaron tumor de células mastocíticas fueron de la siguiente manera: con un porcentaje de 66.66% (n=16/24) de machos y hembras con el 33.33% (n=8/24). Se determinó que cuantitativamente esta variable es significativa. Al contrario, Séguin et al. (2006, p. 935) tuvieron 28 pacientes con diagnóstico positivo a mastocitoma de los cuales 17 fueron hembras y 11 machos. En este caso, al tener en los dos estudios un número de muestreo pequeño, los resultados fueron distintos puesto que los machos predominaron ante las hembras, aunque la literatura menciona que no hay asociación de la presencia del tumor con el sexo.

Tabla 10: Cuantificación de la variable sexo en pacientes positivo diagnosticado por histopatología

Sexo	Frecuencia n= 24	%
Macho	16	66.66
Hembra	8	33.33
Total	24	99.99

- Ubicación anatómica

En esta variable los resultados obtenidos fueron heterogéneos. El tumor estuvo distribuido en distintos lugares del cuerpo, de un total de 24 pacientes, las zonas de afección más frecuente fueron: muslo 16.66% (n=4/24), escroto 8.33% (n=2/24) y cuello 8.33% (n=2/24). Los resultados cuantitativos (Ver Tabla 12) y estadísticos (Anexo 4) demostraron que la presencia del tumor de células cebadas está relacionado con la ubicación anatomopatológica, en este caso el muslo. Otras investigaciones realizadas por Smrkovski et al. (2013, p. 3) mencionan que de 37 pacientes 6 tuvieron en tronco, 4 en muslo, cabeza y cuello, y 3 en escroto y región perianal, mientras que Séguin et al. (2006, p. 935) determinan en su estudio que los tumores mastocíticos fueron localizados en el tronco 30% (n=9/24), cabeza y cuello 16.7% (n=5/24), región perianal 13.3% (n=4/24) y área oral 6.7% (n=2/24). Lo que demuestra que las neoplasias encontradas en este estudio coinciden con la ubicación anatómica de otros estudios.

Tabla 11: Cuantificación de la variable ubicación anatómica en pacientes positivos diagnosticados por histopatología

Ubicación Anatómica	Frecuencia n=24	%
Muslo	4	16.66
Escroto	2	8.33
Cuello	2	8.33
Hombro	1	4.16
Testículo	1	4.16
Glándula Mamaria	1	4.16
Pene	1	4.16
Antebrazo	1	4.16
Esternón	1	4.16
Zona Perianal	1	4.16
Pecho	1	4.16

Tabla 11: Cuantificación de la variable ubicación anatómica en pacientes positivos diagnosticados por histopatología (Continuación).

Linfonodo	1	4.16
Cabeza	1	4.16
Cadera	1	4.16
Abdomen	1	4.16
Belfo	1	4.16
Oreja	1	4.16
Lomo	1	4.16
Párpado	1	4.16
Total	24	99.88

- Análisis histopatológico

Para este análisis se tomó en cuenta los tejidos afectados, distribución, disposición, población celular, criterios de malignidad, mitosis.

Se observó áreas hipercelulares que afectaron la dermis y el panículo adiposo en la mayoría de casos; los músculos esqueléticos, liso (escroto) y estriados (músculo cutáneo) fueron infiltrados por mastocitos; en el parénquima glandular (un caso), de bordes infiltrantes, expansivas, parcialmente delimitadas y ocasionalmente encapsulados. Los bordes quirúrgicos fueron adyacentes y cerca, en pocos casos lejos. Los mastocitos se presentaron en cordones y en ciertos casos en láminas disecando las fibras de colágeno.

El citoplasma presentó variable cantidad de gránulos metacromáticos con núcleos redondeados a ovals centrales con nucléolo evidente. La mayor cantidad de células presentó pleoformismo leve y moderado y pocas, severo; así como anisocariosis y binucleación, un caso cada una. Para el número de mitosis hubo tres casos de más de 9 mitosis x 10 campos, las restantes fueron menos de 3 mitosis x 10 campos. Además las muestras presentaron proliferación de tejido conectivo fibroso (fibrosis), áreas de edema que van de leve, moderado y severo con exudado eosinofílico. En

ciertos casos se encontró dilatación vascular, úlcera y fibras de colágeno degeneradas por acción eosinofílica (figuras en flama).

- Gradificación mastocitoma Kiupel (2011)

La gradificación se aplicó a todos los pacientes diagnosticados mastocitoma positivo por histopatología y los resultados fueron los siguientes: con una frecuencia de 87.5% (n=21/24) bajo grado y 12.5% (n=3/24) alto grado. Lo que significa que del total de casos un gran porcentaje fue de bajo grado según la gradificación de Kiupel. Camus et al. (2016, p. 3) utilizó el mismo sistema de clasificación obteniendo el 88.8% (n=135/152) de casos en bajo grado y 11.2% (n=17/152) en alto grado. En esta ocasión se demuestra que en el mastocitoma predomina el grado bajo.

Tabla 12: Cuantificación de la variable ubicación anatómica en pacientes positivos diagnosticados por histopatología.

Gradificación KIUPEL	Frecuencia n=24	%
Bajo	21	87.5%
Alto	3	12.5%
Total	24	100

Autor: Ana Paredes

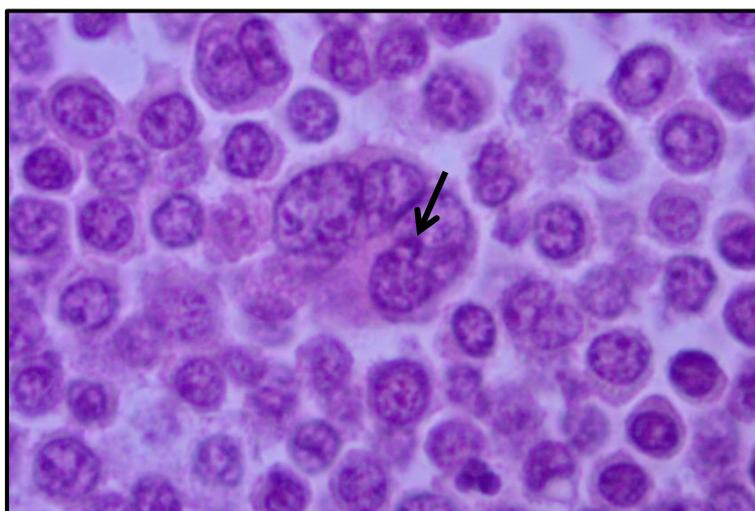


Gráfico 8: Paciente Rocco, Shar-Pei, 6 años, macho, se observa abundantes células mastocíticas y una célula multinucleada, Hematoxilina-eosina, 100x. **Autor:** Dr. Julio Ortiz y Ana Paredes

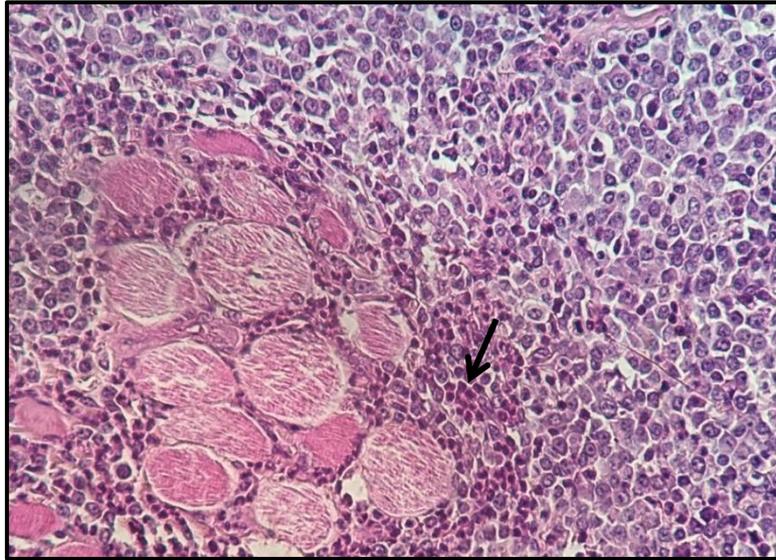


Gráfico 9: Paciente Cruise, Golden Retriever, 4 años, macho, se observa abundantes células mastocíticas, Hematoxilina-eosina, 10x.
Autor: Dr. Julio Ortiz y Ana Paredes

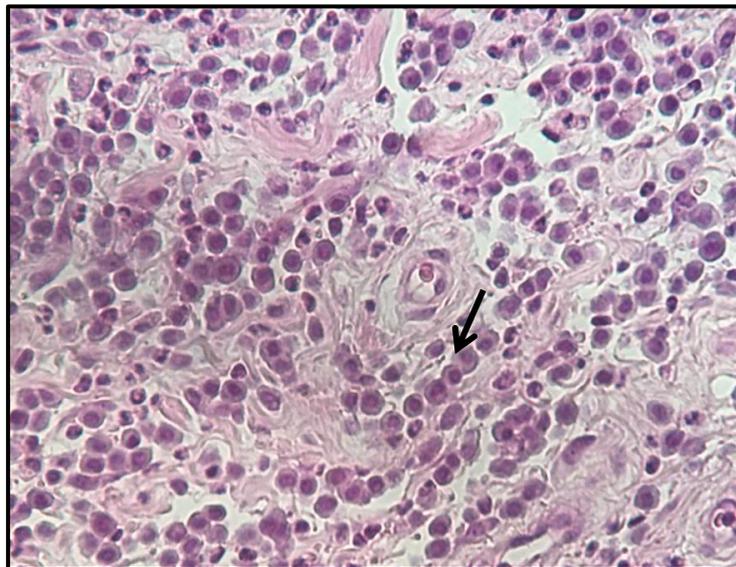


Gráfico 10: Población de células redondas, se observa pleomorfismo celular, Hematoxilina-eosina, 40x. **Autor:** Dr. Julio Ortiz y Ana Paredes

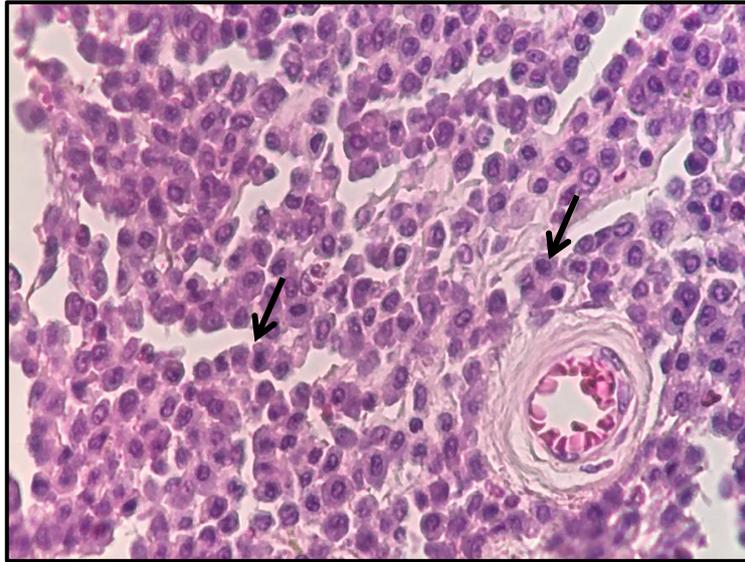


Gráfico 11: Población de células redondas, se observa pleomorfismo celular, Hematoxilina-eosina, 40x. **Autor:** Dr. Julio Ortiz y Ana Paredes

4.3 Tercer grupo – Estudio macroscópico

Para el estudio macroscópico se recopilieron 32 fichas clínicas completas de 40 pacientes con mastocitoma cutáneo, diagnosticados por citología e histopatología, en donde se valoró el tipo de lesiones por paciente. Estadísticamente se observó que la presencia de úlceras y número de lesiones no están relacionados con las variables: edad, sexo y raza; mientras que para el eritema existe asociación significativa con el sexo macho al tener p valor de 0.04. Para la lesión alopécica se encontró una relación cuasi significativa al tener un valor p 0.06 con la edad, lo que está muy cerca de llegar a la relevancia, pero no lo es debido al tamaño muestral, ya que si este fuera mayor tendría relevancia (Anexo 5).

En este grupo se pretendía encontrar cuantitativamente qué tipo de lesión está en este tumor y la frecuencia de su presentación. Los resultados obtenidos en la tabla 13 demostraron que la aparición de alopecia es mayor, con el 56.25%

(n=18/32) de los casos, seguido por el eritema 43.75% (n=14/32), úlceras y edema con 28.12% (n=9/32) cada uno.

Tabla 13: Cuantificación de estudio macroscópico en pacientes positivo a mastocitoma.

Lesiones	Positivos	%
Alopecia	18/32	56.25%
Eritema	14/32	43.75%
Úlceras	9/32	28.12%
Edema	9/32	28.12%

NOTA. Para el conteo de lesiones solo se tomó en cuenta las masas con presencia de las lesiones.



Gráfico 12: Paciente Pepino, Labrador, 6 años, masa en cuello.
Procedimiento realizado: Biopsia escisional. **Autor:** Ana Paredes



Gráfico 13: Paciente Pepino, Labrador, 6 años, masa en cuello.
Procedimiento realizado: Biopsia escisional. **Autor:** Ana Paredes



Gráfico 14: Paciente Leyla, Pitbull, 7 años, hembra, masa en muslo.
Procedimiento realizado: Biopsia escisional. **Autor:** Ana Paredes



Gráfico 15: Paciente Leyla, Pitbull, 7 años, hembra, masa en muslo.
Procedimiento realizado: Biopsia escisional. **Autor:** Ana Paredes

4.4 Cuarto grupo – Estadificación OMS

Las muestras obtenidas para este grupo fueron sometidas a un examen estadístico donde no se presencié ninguna relación de variables raza, sexo y edad con el estadio (Anexo 6).

La estadificación realizada en este proyecto para el mastocitoma demostró que la mayoría de pacientes, con el 68.75% ($n=22/32$) de los casos, estaban en la etapa I del tumor, lo que quiere decir que es un tumor focal sin implicación de linfonodos regionales; el 6.25% ($n=2/32$) en etapa II, tumor confinado en la dermis con implicación del nódulo regional; el 21.87% ($n=7/32$) en etapa III, múltiples tumores dérmicos, largos, infiltrantes, con o sin implicación del linfonodo regional y el 3.12% ($n=1/32$) en etapa IV, cualquier tumor con metástasis. Investigaciones realizadas por Murphy et al. (2015, p. 288) identificaron 280 perros con mastocitoma, de los cuales el 21% ($n=59/280$) presentaron múltiples tumores, que fueron categorizados en la etapa III según la Estadificación de la OMS. Lo que contrasta con los resultados obtenidos en esta investigación.

Tabla 14: Cuantificación de estadificación según OMS en pacientes positivo a mastocitoma.

Estadificación	Frecuencia n=32	%
1	22	68.75%
2	2	6.25%
3	7	21.87%
4	1	3.12%
Total	32	100%

Tabla 15: Cuantificación de la presencia de signos sistémicos en relación con el estadio.

Signos Sistemicos	Frecuencia n=32	%
Sin Signos	32	100
Con Signos	0	0
Total	32	100

5. CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

- El total de casos de citología fue de 61 muestras, donde el 26.22% (n=16/61) fue mastocitoma, lo que concluye que dentro de las neoplasias cutáneas, estudiadas en esta tesis, el mastocitoma no fue el más frecuente.
- En las características macroscópicas del tumor mastocítico, se encontró 4 tipo de lesiones: alopecia, eritema, úlceras y edema; donde alopecia estuvo presente en mayor frecuencia. Y todas las lesiones fueron masas.
- La gradificación histológica para el mastocitoma cutáneo identificó mayor cantidad de tumores de bajo grado y en menor cantidad de alto grado.
- La estadificación clínica según criterios de la OMS evidenció que la mayoría de tumores estaban en la etapa I, seguidos de la etapa III y por último las etapas II y IV., sin signología clínica.
- Para la valoración estadística de las variables edad, sexo, raza y ubicación anatómica, se utilizó los 4 grupos: citología, histopatología, estudio macroscópico y estadificación. Se llegó a la conclusión que las únicas relaciones significativas fue la presencia del tumor en el muslo, en histopatología; la asociación del sexo macho con la presencia del eritema y la cuasi-correlación de alopecia con la edad. Para los demás grupos las variables no fueron significativos.

5.2 Recomendaciones

- Es fundamental implementar un protocolo para el diagnóstico para el mastocitoma para poder brindar un correcto tratamiento, sobre todo si se va a realizar biopsia incisional o escisional, tomando en cuenta que la resección quirúrgica del tumor debe ser realizado con márgenes amplios para evitar recidivas o problemas de cicatrización.
- Se sugiere el análisis de toda masa o nódulo que el paciente presente al momento de la consulta ya que existen otras neoplasias de carácter maligno que pueden afectar la calidad de vida.
- Se recomienda el método de diagnóstico citológico ya que es económico, los resultados son entregados más rápidamente y de esta manera facilitan la toma de decisiones del médico veterinario en cuanto al tratamiento.
- Informar a los médicos veterinarios de la importancia de un correcto diagnóstico oncológico y sus opciones de manejo.
- Profundizar la investigación de esta neoplasia mediante otro tipo de métodos diagnósticos como inmunohistoquímica o genéticos.

REFERENCIAS

- Ackerman, L. (2008). *Atlas de Dermatología en Pequeños Animales*. Buenos Aires, Argentina: Inter-Médica.
- Álvarez, F. (2011). *Mastocitoma en Perros*. Recuperado el 10 de octubre de 2015 de <http://oncologiavet.blogspot.com/2011/11/mastocitoma-en-perros.html>
- Bahrami, A., Khaki, F., Zehtabian, S., Cheraghi, J., Rashnavadi, M., Hafezi, M., Naderafif, M., Javaherypour, S., Mohsenzadeh, S., Hosseini, E., Masoudi, H. y Pourzaer, M. (2014). *Uterine mast cell tumor: a clinical and cytohistopathological study*. *Journal of Ovarian Research*, 7(105), 1-6.
- Blacwood, L., Murphy, S., Buracco, P., De Vos, J.P., De Fornel-Thibaud, P., Hirschberger, J., Kessler, M., Pastor, J., Ponce, F., Savary-Bataille, K. y Argyle, D. J. (2012). *European consensus document on mast cell tumours in dogs and cats*. *Veterinary and Comparative Oncology*, 10(3), 1-29.
- Bronden, L., Eriksen, T. y Kristensen, A. (2010). *Mast cell tumours and other skin neoplasia in Danish dogs - data from the Danish Veterinary Cancer*. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 52(6), 2-6
- Camus, M.S., Priest, H. L., Koehler, J. W., Driskell, E. A., Rakich, P. M., Ilha, M. R. y Krimer, P. M. (2016). *Cytologic Criteria for Mast Cell Tumor Grading in Dogs With Evaluation of Clinical Outcome*, *Veterinary Patology*, 1-7.
- Carlsten, K.S., London, C.A., Haney, S., Burnett, R., Avery, A.C. y Thamm, D.H. (2012). *Multicenter Prospective Trial of Hypofractionated Radiation Treatment, Toceranib, and Prednisone for Measurable Canine Mast Cell Tumors*. *J Vet Intern Med*, 26(1), 1-16.
- Cartagena, J. (2011). *Oncología Veterinaria*. Navarra, España: SERVET.
- Cevallos, V. (2013). *Hallazgos Anatómicos – Histopatológicos En Tumores Cutáneos Extraídos En Caninos De Las Clínicas Veterinarias De La*

Ciudad De Quito (Tesis de Pregrado). Universidad Central del Ecuador, Quito, Ecuador.

Couto, G. y Moreno, N. (2013). *Oncología Canina y Felina. De la teoría a la práctica*. Zaragoza, España: SERVET.

Cowell, R., Tyler, R., Meinkoth, J., DeNicola, D. (2008). *Diagnostic Cytology and Hematology of the dog and cat*. San Luis, Estados Unidos: ELSEVIER

Donnelly, L., Mullin, C., Balko, J., Goldschmidt, M., Krick, E., Hume, C., Brown, D. C. y Sorenmo, K. (2015). *Evaluation of histological grade and histologically tumour-free margins as predictors of local recurrence in completely excised canine mast cell tumours*. *Vet Comp Oncol*, 13(1), 1-7.

Dobson, J.M. y Scase, T.J. (2007). *Advances in the diagnosis and management of cutaneous mast cell tumours in dogs*. *Journal of Small Animal Practice*, 48, 424-431.

Grant, M. (2007). *Jubb, Kennedy, and Palmer's Pathology of Domestic Animals*, Florida, Estados Unidos: ELSEVIER

Green, S. (1991). How Many Subjects Does It Take To Do A Regression Analysis. *Multivariate Behavioral Research*, 26(3), 499-510.

Harris, N., Jaffe, E., Diebold, J., Flandrin, G., Muller-Hermelink, H., Vardiman, J., Lister, T. y Bloomfield, C. (1999). *The World Health Organization Classification of Neoplastic Diseases of the Hematopoietic and Lymphoid Tissues*. *Annals of Oncology*, 10, 1419-1432.

Henry, C. y Higginbotham, M. (2010). *Cancer management in small animal practice*. Missouri, Estados Unidos: ELSEVIER.

Hlinica, K. (2011). *Small Animal Dermatology*. Missouri, Estados Unidos. ELSEVIER.

- Hosseini, E., Pedram, B., Bahrami, AM., Moghaddam, MH., Javanbakht, J., Ghomi, FE., Moghaddam, NJ., Koohestani, M. y Shaffiee, R. (2014). *Cutaneous mast cell tumor (Mastocytoma): cyto- histopathological and haematological investigations*. *Diagn Pathol*, 9(9), 1-5.
- Kiupel, M., Webster, J. D., Bailey, K. L., Best, S., DeLay, J., Detrisac, C. J., Fitzgerald, S.D., Gamble, D., Ginn, P. E., Goldschmidt, M.H., Hendrick, M. J., Howerth, E.W., Janovitz, E.B., Langohr, I., Lenz, S. D., Lipscomb, T. P., Miller, M. A., Misdorp, W., Moroff, S., Mullaney, T.P., Neyens, I., O'Toole, D., Ramos-Vara, J., Scase, T.J., Schulman, F.Y., Sledge, D., Smedley, R.C., Smith, K., Snyder, P.W., Southorn, E., Stedman, N.L., Steficek, B.A., Stromberg, P.C., Valli, V.E., Weisbrode, S.E., Yager, J., Heller, J. y Miller, R. (2011). *Proposal of a 2-Tier Histologic Grading System for Canine Cutaneous Mast Cell Tumors to More Accurately Predict Biological Behavior*. *Veterinary Pathology: General*, 48(1) 147-155.
- Meuten, D. (2002). *Tumors in Domestic Animals*. Iowa, Estados Unidos: Iowa State Press.
- Miller, W., Griffin, C. y Campbell, K. (2013) *Small Animal Dermatology*. Missouri, Estados Unidos: ELSEVIER
- Miller, D. (1995). *The occurrence of mast cell tumors in Young Shar-Pei*. *J Vet Diagn Invest*, 7, 360-363.
- Mohamed, M. (2006). *Epidemiology of Skin Tumor Entities According to the New WHO Classification in Dogs and Cats*. Giessen, Alemania: VVB LAUFERSWEILER VERLAG.
- Moreno, L. (2012). *Neoplasias Cutáneas Comunes en Caninos, Diagnosticadas por Medio de Citología (Diffquick) en el Hospital Docente Veterinario "César Augusto Guerrero" de la Universidad Nacional de Loja y Clínicas Veterinarias de la Ciudad* (Tesis de Pregrado). Universidad Nacional de Loja, Loja, Ecuador.

- Murphy, S., Sparkes, A. H., Brearley, M. J., Smith, K. C. y Blunded, A. S. (2004). *Relationships between the histological grade of cutaneous mast cell tumors in dogs, their survival and the efficacy of surgical resection*. Veterinary Record, 154.
- Murphy, S., Sparkes, H. A., Blunden, A. S., Brearley, M. J. y Smith, K. C. (2006). *Effects of stage and number of tumours on prognosis of dogs with cutaneous mast cell tumours*. Veterinary Record, 158, 287-291.
- Ogilvie, G. y Moore, A. (2008). *Manejo del Paciente Oncológico*. Buenos Aires: Argentina: Inter-Médica.
- Ortiz, K. y Quito, M. A. (2013). *Estudio Histopatológico (Biopsia) de Masas Cutáneas en Caninos de las Clínicas Veterinarias de la Ciudad de Cuenca* (Tesis de Pregrado). Universidad de Cuenca, Cuenca, Ecuador.
- Patnaik, A. K., Ehler, W. J. y MacEwen, E. G. (1984). *Canine Cutaneous Mast Cell Tumor: Morphologic Grading and Survival Time in 83 Dogs*. Vet. Pathol, 21, 469-474
- Reguera, M. J., Rabanal, M., Puigdemont, A. y Ferrer, L. (2000). *Canine Mast Cell Tumors Express Stem Cell Factor Receptor*. American Journal of Dermatopathology, 22(1), 49-54.
- Ríos, A. (2008). *Mastocitoma canino y felino*. Clin. Vet. Peq. Anim, 28(2), 135-142.
- Séguin, B., Besancon, F., McCallan, J. L., Dewe, L. L., Tenwolde, C., Wong, E.K. y Kent, M.S. (2006). *Recurrence Rate, Clinical Outcome, and Cellular Proliferation Indices as Prognostic Indicators after Incomplete Surgical Excision of Cutaneous Grade II Mast Cell Tumors: 28 Dogs (1994–2002)*. Vet Intern Med, 20, 933-940.
- Shoop, S., Marlow, S, Church, D., English, K., McGreevy, P. Stell, A., Thomson, P., O'Neill, D. y Brodbelt, D. (2015). *Prevalence and risk factors for mast cell tumours in dogs in England*. Canine Genetics and Epidemiology, 2(1), 1-10.

- Smrkovski, O.A., Essick, L., Rohrbach, B. W. y Legendre, A. M. (2013). *Masitinib mesylate for metastatic and non-resectable canine cutaneous mast cell tumours*. *Vet Comp Oncol*, 13(3), 1-8.
- Taney, K. y Smith, M. (2009). *Resection of Mast Cell Tumor of the Lip in a Dog*. *J Vet Dent*, 26(1), 28-34.
- Valent, P., Sperr, W., Schwartz, L. y Horny, H. (2004). *Diagnosis and classification of mast cell proliferative disorders: delineation from immunologic diseases and non-mast cell hematopoietic neoplasms*. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 114(1), 3–11.
- Vascellari, M, Giantin, M., Capello, K., Carminato, A., Morello, E., Vercelli, A., Granato, A., Buracco, P., Dascasto, M. y Mutinelli, F. (2012). *Expression of Ki67, BCL-2, and COX-2 in Canine Cutaneous Mast Cell Tumors: Association With Grading and Prognosis*. *Veterinary Pathology*, 50(1), 110-121
- Warland, J., Brioschi, V., Owen, L. y Dobson, J. (2015). *Canine mast cell tumours: decisión-making and treatment*. *In Practice*, 37(7), 315-332.
- Withrow, S., Vail, D. y Page, R. (2013). *Small Animal Clinical Oncology*. Missouri, Estados Unidos: ELSEVIER.
- Withrow, S. y Vail, D. (2009). *Oncología Clínica de pequeños animales*. Barcelona, España: ELSEVIER
- Welle, M. M., Bley, C. R., Howard, J. y Rüfenacht, S. (2008). *Canine mast cell tumours: a review of the pathogenesis, clinical features, pathology and treatment*. *Vet Dermatol*, 19(6), 321-339.

ANEXOS

Anexo 1



EXAMEN CLÍNICO Y ESTADIFICACIÓN DE MASTOCITOMA

Ficha Nº: _____

DATOS DEL PACIENTE

Nombre del paciente: _____

Especie: _____

Raza: _____

Edad: _____

Sexo: M ___ H ___

ANAMNESIS

EXAMEN CLÍNICO

Frecuencia Cardíaca	Frecuencia Respiratoria	Pulso	Mucosas
TLLC	Linfonodos Mandibulares _____ Inguinales _____	Preescapulares _____ Poplíteos _____	

EXAMEN MACROSCÓPICO DEL TUMOR

Ubicación del Tumor			
Numero de Lesiones	Focal	Multifocal	
		Nº	
Forma de la lesión	Masa	Placa	

Tamaño de la lesión (cm, mm, etc)				
Eritema	Si		No	
Úlceras	Si		No	
Alopecia	Si		No	
Edema	Si		No	

ESTADIFICACIÓN DE MASTOCITOMAS (ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE SALUD)

	SI	NO
Tumor incompleto extirpado de la dermis, identificado histológicamente		
Tumor confinado de la dermis		
Múltiples tumores dérmicos; infiltrantes		
Metástasis		

	SI	NO
Sin implicación de linfonodos regionales		
Con implicación de linfonodos regionales		

	SI	NO
Sin signos sistémicos		
Con signos sistémicos		

ETAPA	DESCRIPCIÓN	SI/NO
O	Tumor incompleto extirpado en la dermis, identificado histopatológicamente, sin implicación de linfonodo regional 3. Sin signos sistémicos 4. Con signos sistémico	
I	Tumor confinado en la dermis sin implicación del linfonodo regional 3. Sin signos sistémicos 4. Con signos sistémico	
II	Tumor confinado en la dermis con implicación del nódulo regional 3. Sin signos sistémicos 4. Con signos sistémico	
III	Múltiples tumores dérmicos, tumores infiltrantes con o sin implicación del linfonodo regional. 5. Sin signos sistémicos 6. Con signos sistémico	
IV	Cualquier tumor con metástasis distante, incluyendo sangre o implicación de la médula ósea.	

Anexo 2

Materiales

Materiales de campo o de clínica

- Fichas clínicas
- Esferos
- Marcadores indelebles
- Bata
- Guantes
- Jeringuillas de 3 mL
- Torundas de algodón
- Alcohol
- Portaobjetos estériles
- Cámara de fotos Sony
- Regla

Biopsia:

- Marcadores indelebles
- Frascos de plástico
- Cajas de plástico para muestras histológicas
- Formol 10 %

Materiales de laboratorio

- Microscopio Olympus BX41
- Cámara de fotos Olympus
- Cubreobjetos
- Aceite de inmersión
- Tinción de Diff Quick®
- Fichas de laboratorio
- Esferos

Anexo 3

```
Call:
glm(formula = N_MAST ~ RAZA + EDAD_Y + SEXO, family = binomial(),
     data = CITO)
```

Deviance Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-2.00987	-0.63610	-0.00008	0.12363	2.16627

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	z value	Pr(> z)
(Intercept)	-1.927e+01	1.075e+04	-0.002	0.999
RAZAakita	-1.156e+00	1.521e+04	0.000	1.000
RAZAbasset_hound	-1.025e+00	1.521e+04	0.000	1.000
RAZAbeagle	1.833e+01	1.075e+04	0.002	0.999
RAZAboxer	1.956e+01	1.075e+04	0.002	0.999
RAZAdalmata	-9.924e-01	1.521e+04	0.000	1.000
RAZAdoberman_pincher	3.907e+01	1.521e+04	0.003	0.998
RAZAf_poodle	-2.096e-02	1.202e+04	0.000	1.000
RAZAgolden_retriever	1.745e+01	1.075e+04	0.002	0.999
RAZAhusky	-2.614e-01	1.521e+04	0.000	1.000
RAZAlabrador	1.787e+01	1.075e+04	0.002	0.999
RAZAmestiza	3.268e-02	1.521e+04	0.000	1.000
RAZAmestizo	2.045e+01	1.075e+04	0.002	0.998
RAZApitbull	3.907e+01	1.521e+04	0.003	0.998
RAZApug	-1.123e+00	1.521e+04	0.000	1.000
RAZAschnauzer	1.704e+01	1.075e+04	0.002	0.999
RAZAscharpei	3.814e+01	1.521e+04	0.003	0.998
RAZAshi_tzu	-1.447e-08	1.521e+04	0.000	1.000
RAZAweimaraner	-1.025e+00	1.521e+04	0.000	1.000
EDAD_Y	-3.268e-02	1.403e-01	-0.233	0.816
SEXOmacho	1.025e+00	8.798e-01	1.165	0.244

(Dispersion parameter for binomial family taken to be 1)

Null deviance: 64.193 on 51 degrees of freedom
Residual deviance: 35.623 on 31 degrees of freedom
AIC: 77.623

Anexo 4

```
Call:
glm(formula = N_MAST ~ UBIC_ANAT + SEXO, family = binomial(),
     data = BIOPSIA)
```

Deviance Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-1.23177	-0.50054	-0.28128	-0.00008	2.54939

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	z value	Pr(> z)
(Intercept)	-2.2986	1.0777	-2.133	0.0329 *
UBIC_ANATabdomen	-17.2675	10754.0130	-0.002	0.9987
UBIC_ANATano	-17.0136	10754.0130	-0.002	0.9987
UBIC_ANATantebrazo	22.1185	10754.0130	0.002	0.9984
UBIC_ANATaxila	-17.0136	10754.0130	-0.002	0.9987
UBIC_ANATbelfo	22.1185	10754.0130	0.002	0.9984
UBIC_ANATcabeza	1.6876	1.6119	1.047	0.2951
UBIC_ANATcadera	21.8646	10754.0130	0.002	0.9984
UBIC_ANATcara	-17.0136	10754.0130	-0.002	0.9987
UBIC_ANATcuello	2.0439	1.3979	1.462	0.1437
UBIC_ANATdorso	-17.2675	10754.0130	-0.002	0.9987
UBIC_ANATescroto	1.8593	1.4318	1.299	0.1941
UBIC_ANATesternón	22.1185	10754.0130	0.002	0.9984
UBIC_ANATfalange	-17.0136	6208.8324	-0.003	0.9978
UBIC_ANATfalange	-17.0136	10754.0130	-0.002	0.9987
UBIC_ANATglandula_mamaria	-17.2675	10754.0130	-0.002	0.9987
UBIC_ANATglandula_mamaria	-0.9116	1.4800	-0.616	0.5379
UBIC_ANATglandula_mamaria	-17.2675	5377.0066	-0.003	0.9974
UBIC_ANATglandulas_mamarias	-17.2675	10754.0130	-0.002	0.9987
UBIC_ANAthombro	2.2986	1.7781	1.293	0.1961
UBIC_ANATlabio	-17.0136	10754.0130	-0.002	0.9987
UBIC_ANATlinfonodo	2.4255	1.7634	1.375	0.1690
UBIC_ANATlinfonodos	-17.0136	10754.0130	-0.002	0.9987
UBIC_ANATlomo	1.7724	1.6243	1.091	0.2752
UBIC_ANATlomo_y_torax	-17.0136	10754.0130	-0.002	0.9987
UBIC_ANATmandibula	-17.1457	7593.4175	-0.002	0.9982
UBIC_ANATmandibula	-17.0136	10754.0130	-0.002	0.9987
UBIC_ANATmejilla	-17.1030	6200.7826	-0.003	0.9978
UBIC_ANATmuslo	2.4255	1.2663	1.915	0.0554 .
UBIC_ANATnariz	-17.0136	10754.0130	-0.002	0.9987
UBIC_ANAToreja	0.5385	1.5163	0.355	0.7225
UBIC_ANAToreja_y_glandula_mamaria	-17.2675	10754.0130	-0.002	0.9987
UBIC_ANATparpado	0.8977	1.5477	0.580	0.5619
UBIC_ANATpata	-17.2675	10754.0130	-0.002	0.9987
UBIC_ANATpecho	2.5524	1.8166	1.405	0.1600
UBIC_ANATpene	1.4538	1.6228	0.896	0.3703
UBIC_ANATpierna	-17.1457	7593.4175	-0.002	0.9982
UBIC_ANATprepucio	-17.0526	4061.6430	-0.004	0.9967
UBIC_ANATtestículo	22.1185	10754.0130	0.002	0.9984
UBIC_ANATtonsila	-17.0136	10754.0130	-0.002	0.9987
UBIC_ANATtorax	-17.1030	6200.7826	-0.003	0.9978
UBIC_ANATtumor_cutaneo_no_especificado	-17.2675	10754.0130	-0.002	0.9987
UBIC_ANATvulva	-17.2675	5377.0066	-0.003	0.9974

```

UBIC_ANATzona_periana1      0.5385    1.5163    0.355    0.7225
SEXOmacho                   -0.2539    0.7192   -0.353    0.7241
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

(Dispersion parameter for binomial family taken to be 1)

Null deviance: 130.125 on 144 degrees of freedom
Residual deviance: 78.614 on 100 degrees of freedom
AIC: 168.61

Number of Fisher Scoring iterations: 18

```

Anexo 5

. regress edad nlesiones

Source	SS	df	MS			
Model	.352821825	1	.352821825	Number of obs =	32	
Residual	373.596865	30	12.4532288	F(1, 30) =	0.03	
Total	373.949687	31	12.0628931	Prob > F =	0.8675	
				R-squared =	0.0009	
				Adj R-squared =	-0.0324	
				Root MSE =	3.5289	

edad	Coef.	Std. Err.	t	P> t	[95% Conf. Interval]	
nlesiones	-.091791	.5453353	0.17	0.867	-1.021932	1.205514
_cons	7.959701	1.056037	7.54	0.000	5.802986	10.11642

```
Call:
glm(formula = ERITEMA ~ RAZA + EDAD + SEXO, family = binomial(),
     data = SIGNOS.MACROSCOPICOS)
```

Deviance Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-1.74441	-0.57015	-0.00007	0.56548	1.59387

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	z value	Pr(> z)
(Intercept)	-13.1423	10754.0134	-0.001	0.9990
RAZAbeagle	-2.4742	15208.4710	0.000	0.9999
RAZAboxer	21.4316	10754.0130	0.002	0.9984
RAZacastellano	-0.3693	15208.4709	0.000	1.0000
RAZacocker_spaniel	20.8586	10754.0130	0.002	0.9985
RAZadoberman_pincher	34.5548	15208.4711	0.002	0.9982
RAZagolden_retriever	19.7333	10754.0129	0.002	0.9985
RAZajack_russel	2.2157	15208.4710	0.000	0.9999
RAZalabrador	0.4159	12775.0332	0.000	1.0000
RAZamestiza	18.8462	10754.0129	0.002	0.9986
RAZanr	37.1398	15208.4710	0.002	0.9981
RAZapitbull	16.9850	10754.0131	0.002	0.9987
RAZaschnauzer	0.3282	13115.3083	0.000	1.0000
RAZashar_pei	38.7628	15208.4709	0.003	0.9980
EDAD	-0.3693	0.2316	-1.594	0.1109
SEXOmacho	-3.8387	1.9230	-1.996	0.0459 *

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

(Dispersion parameter for binomial family taken to be 1)

Null deviance: 43.860 on 31 degrees of freedom
Residual deviance: 21.637 on 16 degrees of freedom
AIC: 53.637

Number of Fisher Scoring iterations: 18

```
> ULC<-glm(ULCERAS~RAZA+EDAD+SEXO,SIGNOS.MACROSCOPICOS, family = binomial())
> summary(ULC)
```

Call:

```
glm(formula = ULCERAS ~ RAZA + EDAD + SEXO, family = binomial(),
     data = SIGNOS.MACROSCOPICOS)
```

Deviance Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-1.36342	-0.71397	-0.00009	0.00008	1.96765

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	z value	Pr(> z)
(Intercept)	-18.3532	10754.0134	-0.002	0.999
RAZAbeagle	-0.9543	15208.4711	0.000	1.000
RAZAboxer	0.2321	12332.1648	0.000	1.000
RAZAcastellano	-0.1424	15208.4711	0.000	1.000
RAZAcocker_spaniel	20.0646	10754.0132	0.002	0.999
RAZAdoberman_pincher	-0.5007	15208.4712	0.000	1.000
RAZAgolden_retriever	19.2742	10754.0131	0.002	0.999
RAZAJack_russel	39.9867	15208.4711	0.003	0.998
RAZAlabrador	19.8509	10754.0132	0.002	0.999
RAZAmezstiza	17.6436	10754.0132	0.002	0.999
RAZAnr	39.6285	15208.4711	0.003	0.998
RAZApitbull	18.7380	10754.0132	0.002	0.999
RAZAschnauzer	19.7085	10754.0132	0.002	0.999
RAZAshar_pei	-0.1424	15208.4711	0.000	1.000
EDAD	-0.1424	0.2049	-0.695	0.487
SEXOmacho	-0.2158	1.4925	-0.145	0.885

(Dispersion parameter for binomial family taken to be 1)

Null deviance: 38.024 on 31 degrees of freedom
Residual deviance: 24.382 on 16 degrees of freedom
AIC: 56.382

Number of Fisher Scoring iterations: 18

```
Call:
glm(formula = ALOPECIA ~ RAZA + EDAD + SEXO, family = binomial(),
     data = SIGNOS.MACROSCOPICOS)
```

```
Deviance Residuals:
```

Min	1Q	Median	3Q	Max
-1.69051	-0.73116	0.00007	0.59167	1.69051

```
Coefficients:
```

	Estimate	Std. Error	z value	Pr(> z)
(Intercept)	-14.8930	10754.0133	-0.001	0.9989
RAZAbeagle	-2.5796	15208.4710	0.000	0.9999
RAZAboxer	21.4917	10754.0131	0.002	0.9984
RAZacastellano	38.7471	15208.4710	0.003	0.9980
RAZacocker_spaniel	20.9136	10754.0131	0.002	0.9984
RAZadoberman_pincher	-2.7480	15208.4711	0.000	0.9999
RAZagolden_retriever	20.1039	10754.0130	0.002	0.9985
RAZajack_russel	41.4422	15208.4710	0.003	0.9978
RAZalabrador	20.3361	10754.0131	0.002	0.9985
RAZamestiza	18.7588	10754.0130	0.002	0.9986
RAZanr	39.0792	15208.4710	0.003	0.9979
RAZapitbull	38.7440	12069.2896	0.003	0.9974
RAZaschnauzer	19.9511	10754.0130	0.002	0.9985
RAZashar_pei	38.7471	15208.4710	0.003	0.9980
EDAD	-0.3850	0.2082	-1.849	0.0644 .
SEXOmacho	-1.9780	1.7169	-1.152	0.2493

```
---
```

```
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

```
(Dispersion parameter for binomial family taken to be 1)
```

```
Null deviance: 43.860  on 31  degrees of freedom
Residual deviance: 24.648  on 16  degrees of freedom
AIC: 56.648
```

```
Number of Fisher Scoring iterations: 18
```

```
Call:
glm(formula = EDEMA ~ RAZA + EDAD + SEXO, family = binomial(),
     data = SIGNOS.MACROSCOPICOS)
```

Deviance Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-1.59441	-0.00005	-0.00002	0.00003	1.59441

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	z value	Pr(> z)
(Intercept)	38.8492	30530.1706	0.001	0.999
RAZAbeagle	-41.0287	41340.9067	-0.001	0.999
RAZAboxer	-44.5226	33103.1221	-0.001	0.999
RAZAcastellano	-42.8182	41340.9067	-0.001	0.999
RAZAcocker_spaniel	-44.3150	35666.9558	-0.001	0.999
RAZAoberman_pincher	-18.8529	42268.5075	0.000	1.000
RAZAgolden_retriever	-22.7851	29232.4329	-0.001	0.999
RAZAjack_russel	-45.0158	41340.9067	-0.001	0.999
RAZAlabrador	-22.1939	29232.4330	-0.001	0.999
RAZAmestiza	-62.8895	31647.1997	-0.002	0.998
RAZAnr	-21.0505	42268.5075	0.000	1.000
RAZapitbull	-21.4091	29232.4330	-0.001	0.999
RAZAschnauzer	-21.8800	29232.4330	-0.001	0.999
RAZashar_pei	-42.8182	41340.9067	-0.001	0.999
EDAD	0.3139	0.3192	0.984	0.325
SEXOmacho	-19.4808	8806.5984	-0.002	0.998

(Dispersion parameter for binomial family taken to be 1)

Null deviance: 38.024 on 31 degrees of freedom
Residual deviance: 11.752 on 16 degrees of freedom
AIC: 43.752

Number of Fisher Scoring iterations: 20

```
Call:
glm(formula = NLESIONES ~ RAZA + EDAD + SEXO, family = gaussian(),
     data = SIGNOS.MACROSCOPICOS)
```

```
Deviance Residuals:
```

Min	1Q	Median	3Q	Max
-1.6152	-0.6167	0.0000	0.5334	1.6152

```
Coefficients:
```

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t)
(Intercept)	2.96192	1.58291	1.871	0.0797 .
RAZAbeagle	-1.77155	1.75307	-1.011	0.3273
RAZAboxer	0.60203	1.37043	0.439	0.6663
RAZAcastellano	-0.11516	1.66347	-0.069	0.9457
RAZAcocker_spaniel	0.90305	1.46819	0.615	0.5472
RAZAdoberman_pincher	-0.38613	1.83169	-0.211	0.8357
RAZAgolden_retriever	0.90702	1.29420	0.701	0.4935
RAZAJack_russel	1.69094	1.73530	0.974	0.3443
RAZAlabrador	0.73031	1.44846	0.504	0.6210
RAZAmestiza	-0.28949	1.26914	-0.228	0.8225
RAZAnr	2.41996	1.78834	1.353	0.1948
RAZApitbull	0.90967	1.37807	0.660	0.5186
RAZAschnauzer	0.61516	1.44122	0.427	0.6752
RAZAshar_pei	0.88484	1.66347	0.532	0.6021
EDAD	-0.11516	0.08351	-1.379	0.1869
SEXOmacho	-1.15582	0.69306	-1.668	0.1148

```
---
```

```
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

```
(Dispersion parameter for gaussian family taken to be 1.380086)
```

```
Null deviance: 41.875  on 31  degrees of freedom
Residual deviance: 22.081  on 16  degrees of freedom
AIC: 112.94
```

```
Number of Fisher Scoring iterations: 2
```

Anexo 6

```
Call:
glm(formula = ESTADIO ~ RAZA + EDAD + SEXO, family = gaussian(),
     data = ESTADIFICACION_OMS)
```

Deviance Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-1.0671	-0.4118	0.0000	0.1353	1.7056

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t)
(Intercept)	-0.01468	1.28043	-0.011	0.991
RAZAbeagle	0.65940	1.41809	0.465	0.648
RAZAboxer	-0.22964	1.10856	-0.207	0.839
RAZAcastellano	0.09842	1.34561	0.073	0.943
RAZACocker_spaniel	-0.34446	1.18764	-0.290	0.776
RAZAdoberman_pincher	0.52259	1.48168	0.353	0.729
RAZAgolden_retriever	0.34705	1.04690	0.332	0.745
RAZAJack_russel	-0.59050	1.40371	-0.421	0.680
RAZAlabrador	0.30317	1.17168	0.259	0.799
RAZAmestiza	0.99914	1.02663	0.973	0.345
RAZAnr	-0.16633	1.44661	-0.115	0.910
RAZApitbull	0.80806	1.11474	0.725	0.479
RAZAschnauzer	1.90158	1.16582	1.631	0.122
RAZAshar_pei	2.09842	1.34561	1.559	0.138
EDAD	0.09842	0.06756	1.457	0.165
SEXOmacho	0.32576	0.56063	0.581	0.569

(Dispersion parameter for gaussian family taken to be 0.9030486)

Null deviance: 27.719 on 31 degrees of freedom
Residual deviance: 14.449 on 16 degrees of freedom
AIC: 99.368

Number of Fisher Scoring iterations: 2

Anexo 7

Análisis histopatológico

# Caso	Tejido Afectado
1	Dermis y panículo adiposo
2	Dermis
3	Dermis
4	Dermis y músculo liso
5	Dermis y músculo estriado
6	Parénquima glandular y músculo esquelético
7	Dermis y panículo adiposo
8	Dermis
9	Dermis y músculo esquelético
10	Dermis y panículo adiposo
11	Dermis y panículo adiposo
12	Dermis y panículo adiposo
13	Dermis y panículo adiposo
14	Dermis y panículo adiposo
15	Dermis y panículo adiposo
16	Dermis y panículo adiposo
17	Dermis y músculo liso
18	Panículo adiposo y músculo liso
19	Dermis y panículo adiposo
20	Dermis y fibras musculares
21	Dermis y panículo adiposo
22	Dermis y panículo adiposo
23	Dermis y panículo adiposo
24	Dermis y panículo adiposo

DISTRIBUCIÓN						
Caso	Infiltrante	Expansivo	Delimitado	Encapsulado	Hiper celularidad	Borde Quirúrgico
1	✓		Parcialmente		✓	Adyacente
2	✓	✓	Parcialmente		✓	Adyacente
3			Mal		✓	Cerca
4			Parcialmente		✓	Cerca
5	✓	✓	Parcialmente		✓	Cerca
6	✓	✓	Parcialmente		✓	Cerca
7		✓	Parcialmente	✓	✓	Adyacente
8		✓	Parcialmente		✓	Adyacente
9			Parcialmente		✓	Cerca
10	✓		Parcialmente		✓	Adyacente
11	✓	✓	Parcialmente		✓	Adyacente
12		✓	Parcialmente		✓	Adyacente
13	✓	✓	Parcialmente		✓	Lejos
14	✓	✓	Parcialmente		✓	Adyacente
15	✓	✓	Bien	✓	✓	Cerca

16	✓		Parcialmente		✓	Adyacente
17	✓	✓	Bien		✓	Lejos
18	✓	✓	Parcialmente		✓	Cerca
19	✓		Parcialmente	✓	✓	Adyacente
20	✓	✓	Parcialmente		✓	Adyacente
21	✓		Parcialmente		✓	Adyacente
22	✓	✓	Parcialmente		✓	Adyacente
23	✓	✓	Parcialmente		✓	Adyacente
24	✓		Parcialmente		✓	Adyacente

DISPOSICIÓN		
# Casos	Cordones	Láminas
1	✓	✓
2		✓
3	✓	
4	✓	
5	✓	
6	✓	
7	✓	
8	✓	
9	✓	
10		✓
11	✓	
12	✓	✓
13	✓	
14	✓	
15	✓	✓
16	✓	
17	✓	
18	✓	
19	✓	
20	✓	✓
21	✓	
22		✓
23	✓	
24	✓	

POBLACIÓN CELULAR			
Caso	Gránulos	Núcleo	Nucléolo
1	Metacromáticos	Redondeado	Ocasional
2	Metacromáticos	Oval	Evidente
3	Metacromáticos	Redondeado	Evidente
4	Metacromáticos	Redondeado	Evidente
5	Metacromáticos	Redondeado	Evidente
6	Metacromáticos	Redondeado	Evidente
7	Metacromáticos	Redondeado	Evidente
8	Metacromáticos	Redondeado	Evidente
9	Metacromáticos	Redondeado	Evidente
10	Metacromáticos	Redondeado	Evidente
11	Metacromáticos	Redondeado	Evidente
12	Metacromáticos	Redondeado	Evidente

13	Metacromáticos	Redondeado	Evidente
14	Metacromáticos	Redondeado	Evidente
15	Metacromáticos	Redondeado	Evidente
16	Metacromáticos	Redondeado	Evidente
17	Metacromáticos	Redondeado	Evidente
18	Metacromáticos	Ovalados	Evidente
19	Metacromáticos	Redondeado	Evidente
20	Metacromáticos	Redondeado	Evidente
21	Metacromáticos	Redondeado	Evidente
22	Metacromáticos	Ovalados	Evidente
23	Metacromáticos	Redondeado	Evidente
24	Metacromáticos	Redondeado	Evidente

CRITERIOS DE MALIGNIDAD				
Caso	Pleomorfismo	Anisocariosis	Anisocitosis	Binucleación
1	Leve	Leve		
2	Leve			
3	Leve			
4	Moderado			
5	Severo			
6	Moderado			
7	Leve			
8	Leve			
9	Leve			
10	Moderado			
11	Leve			
12	Severo			
13	Moderado			Leve
14	Leve			
15	Severo			
16	Leve			
17	Leve			
18	Leve			
19	Moderado			
20	Moderado			
21	Leve			
22	Leve			
23	Leve			
24	Leve			

# Caso	# Mitosis x 10 campo
1	1
2	2
3	0-1
4	0-1
5	9
6	0-1
7	1
8	3
9	1
10	1
11	2
12	2
13	3
14	2
15	20
16	2
17	0-1
18	2
19	3
20	3
21	2
22	1
23	2
24	2

Caso	Fibrosis	Edema	Exudado Eosinofílico	Dilatación Vascular	Úlcera	Figura en Flama
1	✓	Moderado	Leve			
2	✓	Leve	Leve			✓
3	✓	Severo	Severo		✓	
4	✓	Severo	Severo	✓	✓	✓
5	✓	Severo	Severo			
6	✓	Leve	Severo	✓		✓
7	✓	Leve	Severo	✓		
8	✓	Leve	Moderado			
9	✓	Severo	Severo	✓		
10	✓	Severo	Severo	✓		
11	✓	Severo	Severo	✓		
12	✓	Moderado	Severo	✓		✓
13	✓	Severo	Severo	✓		
14	✓	Moderado	Severo	✓		
15	✓	Leve	Severo	✓		
16	✓	Moderado	Severo	✓		
17	✓	Moderado	Severo			✓
18	✓	Moderado	Severo	✓		
19	✓	Moderado	Moderado		✓	✓
20	✓	Moderado	Moderado			
21	✓	Moderado	Moderado			
22	✓	Moderado	Severo			
23	✓	Leve	Severo			
24	✓	Moderado	Moderado			