

Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Ciencias Naturales

“El efecto adyuvante del yodo molecular en la quimioterapia metronómica de ciclofosfamida en el cáncer mamario canino”

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de Maestro en Salud y Producción Animal Sustentable

Presenta

M. V. Z. Hector Benjamin Soni Ruiz

Dirigido por

Dra. Xochitl Zambrano Estrada

Co-Director:

Dra. Carmen Yolanda Aceves Velasco

Querétaro, Qro. a 19 de noviembre del 2025

La presente obra está bajo la licencia:
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>



CC BY-NC-ND 4.0 DEED

Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional

Usted es libre de:

Compartir — copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato

La licenciatario no puede revocar estas libertades en tanto usted siga los términos de la licencia

Bajo los siguientes términos:



Atribución — Usted debe dar [crédito de manera adecuada](#), brindar un enlace a la licencia, e [indicar si se han realizado cambios](#). Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que usted o su uso tienen el apoyo de la licenciatario.



NoComercial — Usted no puede hacer uso del material con [propósitos comerciales](#).



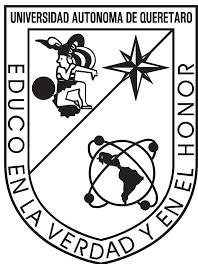
SinDerivadas — Si [remezcla, transforma o crea a partir](#) del material, no podrá distribuir el material modificado.

No hay restricciones adicionales — No puede aplicar términos legales ni [medidas tecnológicas](#) que restrinjan legalmente a otras a hacer cualquier uso permitido por la licencia.

Avisos:

No tiene que cumplir con la licencia para elementos del material en el dominio público o cuando su uso esté permitido por una [excepción o limitación](#) aplicable.

No se dan garantías. La licencia podría no darle todos los permisos que necesita para el uso que tenga previsto. Por ejemplo, otros derechos como [publicidad, privacidad, o derechos morales](#) pueden limitar la forma en que utilice el material.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES
MAESTRÍA EN SALUD Y PRODUCCIÓN ANIMAL SUSTENTABLE

El efecto adyuvante del yodo molecular en la quimioterapia metronómica de ciclofosfamida en el cáncer mamario canino

Tesis

Que como parte de los requisitos de obtener el grado de
Maestro en Salud y Producción Animal Sustentable

Presenta
M. V. Z. Hector Benjamin Soni Ruiz

Dirigido por:
Dra. Xochitl Zambrano Estrada

Co-dirigido por:
Dra. Carmen Yolanda Aceves Velasco

Dra. Xochitl Zambrano Estrada
Presidenta

Dra. Carmen Yolanda Aceves Velasco
Secretaria

MSPAS. Orlando Federico Chávez Moreno
Vocal

MSPAS. Yezenia Rubio Venegas
Suplente

MSPAS. Alejandro Enríquez Vázquez
Suplente

Centro Universitario, Querétaro, Qro.
Noviembre, 2025
México

Resumen.

El cáncer mamario canino representa un problema de salud en medicina veterinaria debido a su alta incidencia y recurrencia. En México, el tratamiento estándar es la cirugía y en casos avanzados es necesario el uso de la quimioterapia bajo el esquema de máxima dosis tolerada (MDT). El fármaco de elección es la doxorrubicina, pero genera toxicidad y resistencia. Nuestro grupo describió por primera vez que el yodo molecular (I_2) en conjunto con la doxorrubicina en caninos con cáncer mamario disminuye la quimiorresistencia e invasión, se acompaña de una mayor respuesta inmune antitumoral, e incrementa el periodo libre de enfermedad. Recientemente se ha surgido un esquema alternativo que consiste en la quimioterapia metronómica cuyo principio es la mínima dosis efectiva (MDE). Se administra vía oral, a bajas dosis y por periodos largos, generando efectos antiproliferativos, anti-angiogénicos e inmunomoduladores. La ciclofosfamida (CFF) es uno de los fármacos más eficientes y estudiados en este esquema. El presente trabajo analiza el efecto del I_2 en la terapia metronómica con CFF (CFF+ I_2) y CFF con placebo (CFF+P) contra el cáncer mamario canino. Los resultados obtenidos con 20 caninas muestran que los tratamientos no afectaron el peso corporal, la función tiroidea o el estado general del paciente. Sin embargo, la presencia de efectos adversos fue mayor en el grupo CFF+P en comparación con el grupo CFF+ I_2 (5 vs 3, respectivamente). La respuesta tumoral mostró una reducción del tamaño tumoral del 5%, con quimiorresistencia del 30% en el grupo CFF+P y una reducción del 15% tanto del tamaño tumoral como de la quimiorresistencia en el grupo CFF+ I_2 . En conclusión, la suplementación del I_2 mejora la respuesta antineoplásica, disminuye la quimiorresistencia y atenúa los efectos adversos en la terapia metronómica CFF. Se propone que el tratamiento CFF+ I_2 es seguro y podría usarse en la clínica en pacientes con CMC.

Palabras clave: cáncer mamario canino, yodo molecular, quimioterapia metronómica, ciclofosfamida.

Summary

Canine mammary cancer (CMC) represents a health problem in veterinary medicine due to its high incidence and recurrence. In Mexico, the standard treatment is surgery, and in advanced cases, it is necessary to use chemotherapy under the maximum tolerated dose (MTD) scheme. The drug of choice is doxorubicin, but it generates toxicity and resistance. Our group described for the first time that molecular iodine (I_2), in conjunction with doxorubicin, decreases chemoresistance and invasion in dogs with mammary cancer, is accompanied by an increased antitumor immune response, and extends the disease-free period. Recently, an alternative scheme has emerged, consisting of metronomic chemotherapy, whose principle is the minimum effective dose (MDE). It is administered orally at low doses and for extended periods, producing antiproliferative, antiangiogenic, and immunomodulatory effects. Cyclophosphamide (CFF) is one of the most efficient and studied drugs in this scheme. The present work analyzes the effect of I_2 in metronomic therapy with CFF (CFF+ I_2) and CFF with placebo (CFF+P) on canine mammary cancer. The results obtained with 20 canines show that the treatments did not affect the patient's body weight, thyroid function or general condition. However, the presence of adverse effects was higher in the CFF+P group compared to the CFF+ I_2 group (5 vs 3, respectively). Tumor response showed a 30% chemoresistance in the CFF+P group and only 15% the CFFm+ I_2 group. In conclusion, I_2 supplementation enhances antineoplastic response, reduces chemoresistance, and mitigates adverse effects in metronomic CFF therapy. It is proposed that CFF+ I_2 treatment is safe and could be used in the clinic in patients with CMC.

Keywords: canine mammary cancer, molecular iodine, metronomic chemotherapy, cyclophosphamide

Este trabajo se realizó en el Laboratorio de Metabolismo Energético del Instituto de Neurobiología, Universidad Nacional Autónoma de México, en el Laboratorio de Patología Veterinaria y Hospital Veterinario de Pequeñas Especies, Universidad Autónoma de Querétaro, Campus UNAM-UAQ Juriquilla, así como en el Hospital General Veterinario, Querétaro.

Bajo la dirección de
Dra. Xochitl Zambrano Estrada y Dra. Carmen Yolanda Aceves Velasco.

Este trabajo fue en parte financiado por el Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT-UNAM) IN202322 y IN203425

Mis estudios de maestría fueron apoyados a través de la beca otorgada por el SECIHTI (antes CONAHCYT) con número de registro: 1069297

Dedicatoria

Quiero dedicar este trabajo a mis amados padres, familiares, amigos y amigas, especialmente a Terry y a las perritas con cáncer mamario canino.

Agradecimiento

A la Universidad Autónoma de Querétaro y a la Facultad de Ciencias Naturales por darme la oportunidad de extender mis conocimientos.

Al programa de la Maestría en Salud y Producción Animal Sustentable por permitirme vivir esta nueva experiencia y por estar siempre presente en mis estudios.

A la Dra. Carmen Yolanda Aceves Velasco, agradecimiento especial por haberme dado la oportunidad de realizar esta investigación, por su gran liderazgo, su tiempo y su enorme paciencia para conmigo.

Otro agradecimiento especial para mi directora la Dra. Xochitl Zambrano Estrada, por la oportunidad de trabajar en esta investigación, por su guía durante toda la maestría, por compartir sus conocimientos de Anatomía Patológica Veterinaria y por su tiempo.

Al MSPAS. Orlando Federico Chávez Moreno, por la oportunidad de trabajar en el Hospital Veterinario de Pequeñas Especies de la Universidad Autónoma de Querétaro (HVPE-UAQ), por su asesoría médica, por su tiempo, por escucharme y orientarme con todos los casos que recibimos en el hospital. De la misma manera agradezco al personal del HVPE-UAQ, a la administradora Miriam, el intendente Rodrigo, al MVZ. Manuel Trejo Mandujano por su asesoría médica y apoyo en imagenología, Dra. Nancy Ramos por su ayuda con pacientes y a todos los estudiantes que cursaron sus prácticas o servicio social en el hospital.

A la MSPAS. Yezenia Rubio Venegas por la oportunidad de trabajar en el Hospital General Veterinario, su asesoría médica, realización de las mastectomías y cuidados postquirúrgicos de todas las pacientes, de la misma manera agradezco al personal del hospital por su apoyo médico con las pacientes.

Al MSPAS. Alejandro Enríquez Vázquez del Laboratorio de Patología Veterinaria/UAQ, por su acompañamiento y siempre preguntarme como estaba o como me iba.

Agradezco también a la Dra. Evangelina Delgado González por su asesoría en el procedimiento de las técnicas moleculares, por escucharme, guiarme y ayudarme durante mi estancia en el laboratorio de metabolismo energético del Instituto de Neurobiología de la UNAM.

Así mismo, agradezco al personal de la UNAM, a Laura Inés García por su asistencia técnica. También agradezco el apoyo de Ramón Martínez Olvera, María Eugenia Rosas Alatorre, Omar González y Moisés Mendoza Baltazar en el área de tecnología y soporte computacional, así como la colaboración de Javier Valles y Rafael Silva en la gestión bibliográfica y a Nuri Aranda y Adriana García por su apoyo académico.

A cada uno de los catedráticos de la Facultad de Ciencias Naturales de la UAQ, que me dieron formación académica en el tránsito de la maestría, especialmente al Dr. Úrsula Dávila Montero, Dra. Tercia Cesárea Réis de Souza y al Dr. Germinal Jorge Cantó Alarcón.

Gracias a mis compañeros del laboratorio D02 de la UNAM, Gustavo Orizaga, Daniela Oliva, Mauricio Chaveste, Alejandro Diego, Michelle Quintero, Vinicio Gil, Marian Mera, Jafet y Laura Cassani, por los buenos ratos compartidos, sus comentarios y apoyo durante mi estancia académica en el laboratorio.

A mis adorados padres, gracias por impulsarme a ser mejor cada día, ayudarme de toda manera durante este posgrado, por creer en mí y por incitarme a ser un mejor Médico Veterinario.

A todos mis familiares que de alguna forma me dieron su apoyo, especialmente a Moy, Jonathan, Chucho, Dana, José, Evelyn, Dana, Beto, Ever, Gaby, Juanquis, Alan Alberto, Armando, Paco, Abraham, Judith, Vico, David, Abi, Gabi, mi tío Toto y mi tío Hector.

Por último, gracias a Dios, por todas sus bendiciones, especialmente Terry que fue promotor para que yo estudiara medicina veterinaria y fue y sigue siendo un promotor para que me realice como Maestro.

Índice

Resumen	i
Summary	ii
Dedicatoria.....	iv
Agradecimiento	v
Índice de figuras.....	x
Índice de cuadros.....	xi
I. Introducción.	1
II. Antecedentes.....	2
2.1. Glándula mamaria: anatomía y fisiología.	2
2.2. Cáncer.....	3
2. 3. Cáncer mamario canino (CMC).	4
2. 4. Factores de riesgo.	6
2. 4. 1. Hormonas: estrógeno y progesterona.....	6
2. 4. 2. Genética.....	7
2. 4. 3. Sexo y Edad.	7
2. 4. 4. Nutrición.	8
2. 5. Clasificación de los tumores.	8
2. 5. 1. Clasificación clínica.....	9
2. 5. 2. Clasificación morfológica.	9
2.5.3. Clasificación molecular.....	11
2. 6. Diagnóstico	12
2. 6. 1. Citología	12
2. 6. 2. Histopatología.....	13
2. 7. Tratamiento	14
2. 7. 1. Cirugía	14
2. 8. Yodo molecular.....	20
IV. Hipótesis.....	22
V. Objetivos	22
Objetivo general	22

Objetivo específico	22
VI. Metodología.....	23
VII. Resultados	26
XI. Bibliografía	37
XII. Anexos.....	51

Índice de figuras

Figura 1. Hallmarks del cáncer. Tomado de Hanahan, 2022.....	3
Figura 2. Neoplasia en glándula mamaria abdominal caudal derecha, ulcerada y de consistencia firme. Fotografía: Hector B. Soni Ruiz.....	5
Figura 3. Paciente con neoplasia mamaria antes (A) y después de la mastectomía (B). Fotografía: Hector B. Soni Ruiz.....	15
Figura 4. Cronología del descubrimiento de los principales efectos de la quimioterapia metronómica. Modificado de Cazzaniga <i>et al.</i> , 2021.....	18
Figura 5. Datos clínicos de la población estudiada.....	27
Figura 6. Ingesta de yodo y estatus tiroideo. A. Concentración urinaria de yodo medida mediante un electrodo selectivo de iones de yodo. B. Niveles sanguíneos de hormona estimulante de la tiroides (TSH), tiroxina total (T4) y triyodotironina (T3) pre y post tratamiento.....	28
Figura 7. Efectos adversos observados: peso corporal ($P<0.6$) y signología de acuerdo a los parámetros establecidos por el grupo de Oncología Cooperativa Veterinaria: Criterios de terminología común para efectos adversos (VCOG-CTCAE v2) (LeBlanc <i>et al.</i> , 2021).....	29
Figura 8. Tamaño tumoral residual * $P<0.05$	31
Figura 9. Fotografía de gel de agarosa (1X) mostrando diferentes muestras tumorales de RNA total.....	31
Figura 10. Expresión génica de muestras tumorales en ambos tratamientos.....	32
Figura 11. Mecanismos apoptóticos y de diferenciación del I ₂ . Tomado de: Aceves <i>et al.</i> , 2021.....	36

Índice de cuadros

Cuadro 1. Criterios para grado histológico de malignidad. Modificado de: (Goldschmidt et al., 2011).....	10
Cuadro 2. Grado de malignidad histológica de las neoplasias mamarias. Modificado de: (Goldschmidt et al., 2011).....	11
Cuadro 3. Principales diferencias de la quimioterapia metronómica y convencional de ciclofosfamida. Modificado de Maiti, 2014.	17
Cuadro 4. Estadio clínico pre y post tratamiento.....	30

I. Introducción

En México se reconoce la dificultad para censar la población canina total, no obstante, el Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI), con base en la Encuesta Nacional de Bienestar Autorreportado (ENBIARE), reporta 43.8 millones de caninos cohabitando en hogares mexicanos. Uno de los principales problemas de salud en medicina veterinaria son las neoplasias de glándula mamaria en perras ya que representan entre el 50-70% de todas las neoplasias en esta especie; siendo las malignas alrededor del 50%. Es importante mencionar que la incidencia del cáncer mamario en perras es cuatro veces mayor al descrito en mujeres, (~198/100 000 vs 46.8/100 000 respectivamente). El tratamiento principal para el cáncer mamario canino (CMC) es la cirugía, sin embargo, en los casos de alto grado de malignidad se recomienda la quimioterapia adyuvante con doxorrubicina bajo el esquema de máxima dosis tolerada (MDT). Como todas las terapias MDT, se acompañan de quimiorresistencia y severos efectos adversos, lo cual genera deserción del tratamiento. Con el propósito de generar tratamientos alternos efectivos y menos agresivos, se utilizan compuestos naturales adyuvantes como el yodo molecular (I_2), el cual se ha estudiado ampliamente con terapias MDT, ejerciendo efectos antineoplásicos adyuvantes (menor tamaño tumoral y disminución de la quimiorresistencia), incrementa la respuesta inmune antitumoral y atenúa los efectos adversos; sin embargo, la toxicidad sigue siendo alta. Además, la administración del quimioterapéutico es intravenosa, lo cual genera altos costos hospitalarios. Actualmente, existe la quimioterapia metronómica, un tratamiento alterno que se basa en la dosis mínima efectiva (DME), se administra de manera oral a dosis bajas y en periodos largos de manera continua. Sus principales ventajas son: acciones antiangiogénicas, evitar la inmunosupresión y quimiorresistencia, así como efectos adversos moderados. En este trabajo se estudia el suplemento del I_2 en el esquema de quimioterapia metronómica de ciclofosfamida en el cáncer mamario canino.

II. Antecedentes

2.1. Glándula mamaria: anatomía y fisiología

La glándula mamaria se encuentra exclusivamente en los mamíferos, son órganos exocrinos altamente especializados en la síntesis y secreción de leche. Su localización varía por especie, en los perros las cadenas mamarias se localizan paralelas a la línea media ventral desde la región esternal hasta la región inguinal. Según la región, se denominan en glándulas torácicas craneales, torácicas caudales, abdominales craneales, abdominales caudales e inguinales (Sadhasivan *et al.*, 2017).

La mayoría desarrollan cinco pares de glándulas mamarias, aunque se han reportado algunos casos con cuatro o seis pares. Histológicamente está clasificada como glándula mamaria alveolar compuesta, los lóbulos y lobulillos conformados por una porción conductora y secretora. La porción conductora desemboca en la punta del pezón mostrando entre 7 y 16 conductos que se muestran externamente como aberturas. Los conductos cercanos al pezón son de mayor calibre y revestidos por epitelio biestratificado cúbico, mientras que a medida que se aproximan al acino, son de menor calibre y revestidos por epitelio cúbico simple; el acino es la porción secretora y se encuentra revestido con células epiteliales cúbicas o columnares simples y una exterior continua de células mioepiteliales (Sorenmo *et al.*, 2011).

Desde el punto de vista fisiológico, hormonas como los estrógenos, progesterona, prolactina y la hormona del crecimiento son esenciales para su desarrollo y funcionalidad. La diferenciación mamaria se inicia en la pubertad y se modifica en cada ciclo estral, aunque alcanza su diferenciación completa en la gestación y lactancia (Spoerri *et al.*, 2015).

2.2. Cáncer

El cáncer se refiere a una neoplasia maligna con división celular descontrolada, capaz de invadir tejidos adyacentes y provocar metástasis a distancia. También se puede considerar como una serie de enfermedades desencadenadas por la acumulación de mutaciones genéticas que impulsan la progresión de una célula normal a una célula altamente maligna (Pinello *et al.*, 2022).

Los mecanismos que habilitan la carcinogénesis se denominan “Hallmarks del cáncer” e incluyen 14 capacidades distintivas del cáncer que se resumen en la Figura 1.

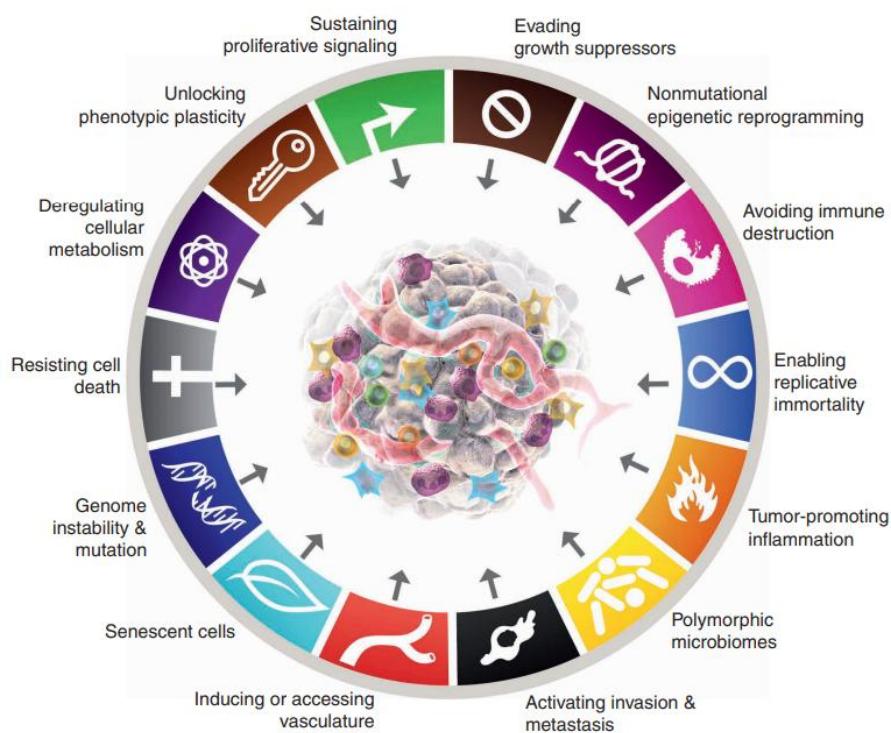


Figura 1. Hallmarks del cáncer. Tomado de Hanahan, 2022.

Los caninos, desarrollan diferentes tipos de cáncer biológicamente similares a los del humano haciéndolos un excelente modelo para la

investigación (Fonseca-Alves *et al.*, 2024). El cáncer de glándula mamaria es la neoplasia diagnosticada con mayor frecuencia en mujeres con función ovárica conservada y hembras caninas intactas y es una de las principales causas de mortalidad en ambas especies (Gray *et al.*, 2020; Vazquez *et al.*, 2023; GLOBOCAN, 2024).

2. 3. Cáncer mamario canino (CMC)

Los tumores mamarios caninos (TMC) representan entre el 50 y 70% de todas las neoplasias en perras mayores a 5 años (da Silva *et al.*, 2023), de este porcentaje alrededor del 50% son de carácter maligno (Valdivia *et al.*, 2021).

El tamaño es variable, desde unos milímetros hasta centímetros, su forma es nodular o multinodular, generalmente se presentan de manera múltiple y en las glándulas mamarias inguinales, Figura 2 (Salas-Araujo *et al.*, 2016).

Las neoplasias malignas, se caracterizan por un crecimiento rápido, las mayores a 5 centímetros están asociadas a un mal pronóstico (Sorenmo *et al.*, 2013). Los bordes tienden a ser irregulares y mal definidos, no se desplazan al tacto debido a que tienden invadir planos anatómicos adyacentes, suelen estar ulcerados, en ocasiones fluye de los pezones descarga serosa, lechosa o serohemorrágica (Misdorp, 2002). Su naturaleza heterogénea (dada por la población celular que prolifera), determina la apariencia y consistencia variadas. Aproximadamente entre el 60 y 80% de los tipos de cáncer mamario canino son de estirpe epitelial y el resto son mixtos (células de estirpe epitelial y mesenquimal) (Salas-Araujo *et al.*, 2016). Los sitios de consistencia firme son los constituidos de epitelio, pueden coexistir quistes que presentan una consistencia suave; los sitios de consistencia dura reflejan la presencia de células mesenquimales con diferenciación ósea y/o cartilaginosa. Así mismo, pueden observarse sitios de variada consistencia derivados de fenómenos

como necrosis, tipo de estroma o transición mesenquimal (tejido mixoide) (Goldschmidt *et al.*, 2011; Burrai *et al.*, 2020; Rueda *et al.*, 2024).



Figura 2. Neoplasia en glándula mamaria abdominal caudal derecha, ulcerada y de consistencia firme. Fotografía: Hector B. Soni Ruiz.

El cáncer de glándula mamaria es la neoplasia diagnosticada con mayor frecuencia en mujeres con capacidad reproductiva conservada y perras enteras, con una incidencia de 47.8 por cada 100,000 y 198 por cada 100,000 respectivamente (Gray *et al.*, 2020; Vázquez *et al.*, 2023; GLOBOCAN, 2024). El CMC y el cáncer mamario humano (CMH) comparten características epidemiológicas, ambientales, biológicas, clínicas, genéticas y patológicas, incluyendo notable heterogeneidad histológica y molecular (Valdivia *et al.*, 2021).

En las perras, el tipo de cáncer más frecuente es el de origen epitelial representando el 55.6%, mientras que los de origen mixto 37.4%, los de origen mesenquimal se presentan en menos del 7% de los casos (Sleekx *et al.*, 2011). En México se realizó un estudio en el cual se asociaron características histológicas de TMC con factores de riesgo y supervivencia, con respecto al cáncer se observó que el más frecuente fue el carcinoma simple (18/74, 24.3%),

carcinoma complejo (11/74, 14.9%) y carcinoma tipo mixto (9/74, 12.6%), tendiendo a presentarse en las perras de mayor edad y en las de raza (las más afectadas son la Poodle, Cocker Spaniel y Dachshund); por otra parte, el tamaño tumoral: los mayores a 6 centímetros resultaron con mayor mortalidad y el tiempo de supervivencia fue el más corto, así como también en animales con carcinomas sólidos, comedocarcinomas y carcinosarcomas en orden decreciente (Salas-Araujo *et al.*, 2016).

2. 4. Factores de riesgo

La etiología del CMC y CMH es desconocida, no obstante, se han identificado factores de riesgo comunes entre los que destacan; exposición a estrógenos, genética, sexo, edad y nutrición (Santos *et al.*, 2020).

2. 4. 1. Hormonas: estrógeno y progesterona

Los esteroides ováricos estimulan el crecimiento de las glándulas mamarias en condiciones fisiológicas, sin embargo, en una célula alterada (pretumoral o tumoral), el efecto proliferativo es un factor inductor de la progresión cancerosa (Vazquez *et al.*, 2023; Ke *et al.*, 2024). Por lo tanto, la sobreexposición a hormonas sexuales endógenas es un factor de riesgo en el desarrollo de esta enfermedad (da Silva *et al.*, 2023).

Está bien documentado que el riesgo a padecer tumores mamarios caninos es de 0.5% en aquellas perras esterilizadas antes del primer estro, mientras que aumenta 8% y 26% después del primer y segundo celo respectivamente (Nosalova *et al.*, 2024). Esterilizar a las hembras, incluso después de los dos años de edad, reduce el riesgo de mortalidad por trastornos reproductivos como el CMC y prolonga la esperanza de vida (Beaudu-Lange *et al.*, 2021), involucra también otras ventajas como prevenir el complejo

hiperplasia quístico endometrial/piometra que se produce como consecuencia de la influencia hormonal crónica en el útero (DeTora & McCarthy, 2011).

2. 4. 2. Genética

Otro factor importante es la raza, ya que puede influir en la incidencia del CMC (Vazquez *et al.*, 2023). Esta información varía mucho dependiendo de la zona geográfica, el estudio y los sesgos (Vazquez *et al.*, 2023). Las razas modernas han sido reproducidas de manera selectiva para marcar las características fenotípicas y/o de comportamiento particulares y deseadas, lo cual ha dado como resultado más de 190 razas fenotípicamente diferentes. En este proceso, muchas razas individuales están predispuestas a enfermedades o condiciones patológicas particulares (Huskey *et al.*, 2020; Edmunds *et al.*, 2023). En México se ha descrito una menor incidencia en perras mestizas y mayor riesgo en las de raza, algunas descritas son la Poodle, Cocker Spaniel y Daschshund (Salas-Araujo *et al.*, 2016).

2. 4. 3. Sexo y Edad

La edad es uno de los principales factores de riesgo para el CMC. En general, el riesgo aumenta con la edad, siendo de mayor importancia después de los 5 años (Burrai *et al.*, 2020; Zheng *et al.*, 2022).

La incidencia más alta de edad depende del tiempo de vida de diferentes razas, ya que las razas grandes tienen un tiempo de vida menor y por consiguiente, tienden a ser más jóvenes que las razas pequeñas al momento del diagnóstico (Sorenmo *et al.*, 2013).

Además, la incidencia por sexo es parecida en ambas especies; el CMH es más frecuente en mujeres, con el 1% de presentación en todos los casos de cáncer en los hombres; esta misma proporción se presenta en caninos machos,

con un riesgo aproximado de 62 veces menor que en las hembras (Carvalho *et al.*, 2023).

2. 4. 4. Nutrición

La obesidad es el principal factor asociado a la incidencia por nutrición. Entre los factores que relacionan la obesidad con la carcinogénesis se encuentran la activación de la vía del factor de crecimiento similar a la insulina 1 (IGF-1), el cual induce la expresión de citocinas proinflamatorias (TNF- α , IL-1 y IL-6) y su influencia sobre las adipocitocinas, y la dislipidemia. (Costa-Santos *et al.*, 2019).

Una de las hormonas representativas liberadas por adipocitos es la leptina, que estimula la proliferación celular en el cáncer de mama humano y canino al regular de manera positiva la transcripción de la aromatasa, los niveles de leptina circulante tiene correlación con la acumulación de adipocitos, se encontró que altos niveles de receptores de leptina intratumoral y leptina plasmática se relacionan con un mal pronóstico (Lim *et al.*, 2015).

El tejido adiposo es una fuente importante de estrógenos, debido a la actividad de la aromatasa que convierte los andrógenos en estrógenos. El crecimiento de tejido adiposo mamario contribuye a la exposición de la glándula a estrógenos, lo cual promueve la progresión de las neoplasias mamarias (Benavente *et al.*, 2016). Además, se ha descrito mayor incidencia en perras que recibieron dieta casera y carne roja en comparación con las dietas comerciales (Zatloukal *et al.*, 2005).

2. 5. Clasificación de los tumores

2. 5. 1. Clasificación clínica

Para definir el grado de extensión local, regional y distante en caninos, se ha establecido la estadificación clínica basada en la evaluación del tamaño del tumor (T), linfonodos afectados (N) y metástasis (M). Consiste en cinco etapas, en la I, II y III la localización del tumor solo se limita a la glándula mamaria y el tamaño tumoral es diferente: menor a 3 centímetros, 3-5 centímetros o mayor a 5 centímetros respectivamente; en el estadio IV se ven afectados además los linfonodos y en el V se suma la metástasis. Generalmente la metástasis ocurre a través de los vasos linfáticos a los linfonodos regionales y pulmones (Sleekx *et al.*, 2011).

Actualmente, existen nuevos avances del sistema de estadificación del TNM para el CMC en el área de la veterinaria, que se complementan con la clasificación histopatológica y/o inmunohistoquímica (Chocteau *et al.*, 2019; Valdivia *et al.*, 2021).

2. 5. 2. Clasificación morfológica

La histopatología se mantiene como el mejor método para clasificar el TMC (Gray *et al.*, 2020). La Organización Mundial de la Salud (OMS) publicó por primera vez la “Clasificación histológica internacional de tumores de animales domésticos” en el año 1974, en 1999 realizó una modificación que incluía tumores y displasias de la glándula mamaria. Debido a varios nuevos subtipos de TMC descritos, se creó una nueva y más completa clasificación en 2011 descrita por el Colegio Americano de Patólogos Veterinarios, en la que los TMC se dividieron en 23 subtipos malignos y 7 benignos, hiperplasias/displasias, neoplasias del pezón e hiperplasias/displasias del pezón (Goldschmidt *et al.*, 2011; Nosalova *et al.*, 2024) (Tavasoly *et al.*, 2013).

Los TMC son de alta variabilidad en su morfología y generalmente compuestos por más de un tipo de células, como las células epiteliales luminales, células mioepiteliales y células mesenquimales, mixtas o solas (Vazquez *et al.*, 2023). Los TMC benignos usualmente están encapsulados, la morfología celular es homogénea y no son de crecimiento invasivo (Nosalova *et al.*, 2024).

Por otra parte, los principales criterios para TMC malignos son el tipo de tumor, pleomorfismo nuclear y celular significativo, índice mitótico, patrón de cromatina, presencia de áreas de necrosis distribuidas aleatoriamente dentro de la neoplasia, invasión peritumoral y linfática, y metástasis ganglionar regional.

Para evaluar de manera objetiva estos criterios se determina el grado histológico mediante el sistema de clasificación de Elston y Ellis, que infiere el comportamiento biológico y orienta las decisiones terapéuticas; este sistema es empleado en CMH. Múltiples estudios sugieren que es eficaz para el CMC, Misdorp modificó este sistema para su aplicación en CMC, posteriormente se desarrolló un sistema de clasificación histológica más objetiva (Cuadros 1 y 2) (Goldschmidt *et al.*, 2011).

Cuadro 1. Criterios para grado histológico de malignidad. Modificado de: (Goldschmidt *et al.*, 2011).

	Formación tubular	Pleomorfismo nuclear	Mitosis en 10 campos de 40x / hipercromatismo
1 punto			
Peña	Formación tubular > 75%	Núcleo pequeño uniforme o regular y nucleolos ocasionales.	0-9 mitosis/10/campos
Misdorp	Formación de túbulos bien marcada.	Pleomorfismo nuclear leve y tinción.	Núcleos hiperchromáticos ocasionales o mitosis por campo.
2 puntos			
Peña	Formación moderada de estructuras tubulares (10-75%) con áreas de	Pleomorfismo moderado del núcleo, núcleo hiperchromático y presencia	10-19 mitosis por 10 campos.

	crecimiento de tumores sólidos.	de nucléolos (algunos casos prominentes).	
Misdorp	Formación moderada de túbulos.	Pleomorfismo nuclear moderado y tinción.	2-3 núcleos hipercromáticos o figuras mitóticas por campo.
3 puntos			
Peña	Formación mínima o nula de túbulos (<10%)	Variación marcada en tamaño nuclear y núcleo hipercromático, a menudo con uno o más nucléolos prominentes.	>20 mitosis/10/campo.
Misdorp	Pocos o ningún túbulos.	Pleomorfismo nuclear marcado y tinción.	2-3 núcleos hipercromáticos o figuras mitóticas por campo.

Cuadro 2. Grado de malignidad histológica de las neoplasias mamarias.

Modificado de: (Goldschmidt *et al.*, 2011).

Total de puntos	Grado de malignidad
3 a 5	Grado I o bien diferenciado
6 a 7	Grado II o moderadamente diferenciado
8 a 9	Grado III o pobremente diferenciado

2.5.3. Clasificación molecular

El cáncer de mama humano (CMH), se clasifica en cuatro subtipos moleculares de acuerdo con la expresión del receptor de estrógeno (ER), receptor de progesterona (PR) y el receptor del factor de crecimiento epidérmico humano tipo 2 (HER2) de la siguiente manera:

- Luminal A. RE⁺ y/o RP⁺, HER2⁻.
- Luminal B. RE⁺ y/o RP⁺, y HER2⁺.
- ER⁻ o PR⁻ y HER2⁺.
- Triple negativo. HER2⁻, ER⁻ o PR⁻.

El CMC comparte similitudes con el CMH como incidencia, factores de riesgo, comportamiento biológico, características histológicas, moleculares y

genéticas. Se han utilizado los mismos marcadores que en los subtipos del CMH, sin embargo, los resultados obtenidos han sido de alta variabilidad y en algunos casos contradictorios por lo que esto abre una ventana para explorar el desarrollo de cáncer de glándula mamaria en el modelo canino (Carvalho *et al.*, 2023; Vazquez *et al.*, 2023; Nosalova *et al.*, 2024).

2. 5. 3. 1. Marcadores de funcionalidad

La expresión de algunos otros mensajeros se ha utilizado como marcadores de funcionalidad sobre la enfermedad, su detección permite también ser una herramienta de diagnóstico, pronóstico o estadificación del cáncer en oncología humana y veterinaria. Los utilizados con mayor frecuencia son: proteínas Ki-67 y p53, factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF), receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), ciclooxygenasa-2 (COX-2), supresores de tumores BRCA-1/2, entre otros (Nosalova *et al.*, 2024). Además de biomarcadores de apoptosis (Bax/Bcl2), quimiorresistencia: Multidrug resistance 1 (MDR1) y survivina, así como de invasión: activador del plasminógeno uroquinasa (uPA) (Zambrano-Estrada *et al.*, 2018).

2. 6. Diagnóstico

Se realiza mediante la evaluación macroscópica, evaluación microscópica (histopatología), y/o Aspiración Citológica con Aguja Delgada (ACAD) y se complementan con ACAD de linfonodos regionales, ultrasonido, radiografía de tórax y tomografía computarizada para su estadificación (Sai *et al.*, 2024).

2. 6. 1. Citología

Estudia los cambios morfológicos, función, patología e historia de vida de las células provenientes de tejidos y líquidos corporales que fueron extraídas mediante diferentes técnicas como Aspiración Citológica con Aguja Delgada

(ACAD), Punción con Aguja Fina (PAF), hisopado, impronta, raspado, cepillado y lavado. Permite diferenciar entre procesos benignos y malignos, identificar agentes infecciosos y orientar decisiones terapéuticas (Sangha *et al.*, 2011). El diagnóstico por citología ofrece varias ventajas ya que es simple, económica, fácil de realizar, mínimamente invasiva, altamente informativa y rápida (Kaszak *et al.*, 2022). Sontas *et al.* (2012) demostraron que el diagnóstico, la sensibilidad y especificidad de la citología para diagnosticar neoplasias malignas fue más del 96%, sin embargo, Allison & Maddux (2008) mencionan que se podría obtener un alto porcentaje de casos falsos negativos debido a diferentes factores, como errores del muestreo, tamaño del tumor y morfología de los TMC, esto debido a su alta heterogeneidad, todos los resultados deben confirmarse con histopatología.

2. 6. 2. Histopatología

Estudia los cambios estructurales o morfológicos de los tejidos a nivel histológico con el objetivo de identificar lesiones y diagnosticar enfermedades. Para abordar enfermedades neoplásicas, inflamatorias o degenerativas, la evaluación histopatológica se posiciona como la herramienta diagnóstica de mayor sensibilidad y especificidad por lo que representa el método más preciso y confiable para establecer el diagnóstico definitivo, constituye el estándar diagnóstico de referencia (Misdorp, 2002).

La histopatología también tiene un valor pronóstico fundamental al evaluar presencia de metástasis (permeación vascular), células tumorales en bordes quirúrgicos, además del grado de malignidad que predice el comportamiento tumoral como se describió anteriormente (Misdorp, 2002; Cassali *et al.*, 2024).

2. 7. Tratamiento

Los tratamientos pueden clasificarse en quirúrgicos y farmacológicos (quimioterapia) o una combinación de ambos (Nosalova *et al.*, 2024).

2. 7. 1. Cirugía

El tratamiento más común para el CMC es la extirpación quirúrgica del tumor o tumores. Las técnicas quirúrgicas empleadas son la nodulectomía, mastectomía regional (Figura 3), mastectomía simple, mastectomía unilateral y bilateral. El tipo de cirugía se determina basándose en ciertos criterios, localización y tamaño del tumor, linfonodos regionales comprometidos, adherencia y fijación del tumor al tejido y el número total de lesiones (Nosalova *et al.*, 2024). El objetivo de la cirugía es la resección de todos los tumores con buenos márgenes quirúrgicos y la prevención de reincidencias (Vazquez *et al.*, 2023).

A pesar de la elevada incidencia de CMC, no existe información concreta para establecer la técnica quirúrgica adecuada; sin embargo, existen recomendaciones: tumores menores a un centímetro de diámetro se utiliza la nodulectomía, la mastectomía simple se emplea cuando el tumor es más grande y se sitúa dentro de manera central dentro de la glándula mamaria. Para animales con múltiples tumores, las técnicas empleadas son la mastectomía regional, unilateral o bilateral, y al igual que otras resecciones tumorales, el margen quirúrgico debe ser de dos centímetros como mínimo ya que es vital la extirpación completa para evitar nuevas cirugías (Sorenmo *et al.*, 2019; Valdivia *et al.*, 2021).



Figura 3. Cáncer mamario canino. A. Antes de la mastectomía. B. Despues de la mastectomía. Fotografía: Hector B. Soni Ruiz.

2. 7. 2. Quimioterapia

La quimioterapia hace referencia a los fármacos empleados para tratar el cáncer.

2. 7. 2. 1. Quimioterapia convencional

El tratamiento convencional se basa en la administración de fármacos citotóxicos con la máxima dosis tolerada (MDT) seguido por un periodo de descanso para permitir al organismo la recuperación, regularmente con ciclos de 21 días (Banys-Paluchowski *et al.*, 2017). Su acción se dirige principalmente a células que presentan constante división como las tumorales (Cunha *et al.*, 2017), pero también afecta a las células del tejido normal de rápido recambio celular, como células precursoras de la médula ósea, epitelio intestinal, células inmunitarias, folículos pilosos, entre otros (Biller, 2014). El periodo de descanso entre tratamientos para evitar estos efectos deletéreos, permiten también que las células tumorales adquieran resistencia al tratamiento. Este fenómeno se conoce, como “resistencia a múltiples fármacos”, e incluye una serie de modificaciones moleculares (señalización de sobrevivencia, bombas de

expulsión de fármacos, etc.) que le permiten a la célula tumoral volverse resistente a los siguientes tratamientos (Hanahan, 2022).

Se utilizan fármacos antiproliferativos, inhibidores de receptores hormonales y anticuerpos dirigidos a receptores membranales (inmunoterapia), de los primeros se utilizan con mayor frecuencia doxorrubicina, carboplatino, mitoxantrona, 5-fluorouracilo y ciclofosfamida (Nosalova *et al.*, 2024).

2. 7. 2. 2. Quimioterapia metronómica

La quimioterapia metronómica (QM) se basa en la premisa de la mínima dosis efectiva (MDE) y se caracteriza por la administración oral de agentes quimioterapéuticos en dosis bajas y por tiempos prolongados (Milevoj *et al.*, 2022) (Cuadro 3).

El agente citotóxico utilizado con mayor frecuencia en esta quimioterapia es la ciclofosfamida (CFF), como único tratamiento o en combinación (Penel *et al.*, 2012). La CFF pertenece a la clase de las mostazas nitrogenadas que son agentes alquilantes del DNA, a través de la formación de enlaces covalentes (Highley *et al.*, 2022). La ciclofosfamida es una pro-droga metabolizada en el hígado generando la mostaza fosforamida que es el agente antineoplásico, y la proteína acroleína causante del mayor efecto secundario de este fármaco que es la irritación del epitelio vesical conocida como cistitis hemorrágica (Veal *et al.*, 2016).

Esta terapia metronómica con CFF ha sido extensamente estudiada en caninos. Elmslie *et al.*, (2008), encontraron que en sarcomas el protocolo de CFF a dosis bajas y continuas en combinación con piroxicam a dosis altas fue muy efectivo en la inhibición de nuevos crecimientos tumorales. Los perros de grupo control tuvieron recurrencia del tumor con una mediana de tiempo libre de enfermedad (TLE) de 211 días, mientras que en el grupo experimental el TLE

aumentó a 411 días. En el cuadro 3 se describen las principales diferencias entre las quimioterapias.

Cuadro 3. Principales diferencias de la quimioterapia metronómica y convencional de ciclofosfamida. Modificado de Maiti, 2014.

QUIMIOTERAPIA CONVENCIONAL		QUIMIOTERAPIA METRONÓMICA	
Ciclofosfamida		Ciclofosfamida	
Máxima dosis tolerada (200-250 mg/m ²)		Mínima dosis efectiva (15 mg/m ²)	
Vía intravenosa		Vía Oral	
Intervalos		Continuo	
Costo alto (medicamentos, hospitalización)		Bajo costo	
Efectos adversos mayores		Efectos adversos moderados	

2. 7. 2. 2. 1. Mecanismos de acción de la quimioterapia metronómica

Previamente se creía que la QM solo actuaba en la inhibición de la angiogénesis pero ahora se le han identificado diferentes mecanismo de acción tales como: anti-angiogénicos, muerte celular tumoral directa y activación el sistema inmune antitumoral (Cazzaniga *et al.*, 2021; Jan *et al.*, 2024) (Figura 4).

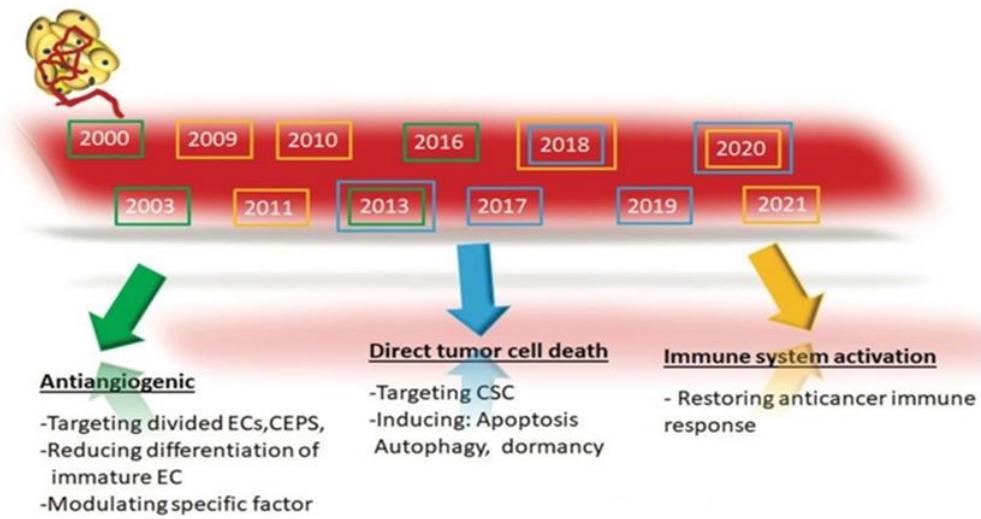


Figura 4. Cronología del descubrimiento de los principales efectos de la quimioterapia metronómica. Modificado de Cazzaniga *et al.*, 2021.

2. 7. 2. 2. Mecanismo anti-angiogénico

La angiogénesis y vasculogénesis son procesos fundamentales para el crecimiento y la metástasis tumoral. La angiogénesis se define como la vascularización nueva desarrollada por células endoteliales maduras a partir de vasos existentes. La vasculogénesis es mediada por una secuencia bien regulada de eventos que involucra factores de crecimiento, como pro-angiogénicos y anti-angiogénicos, y células progenitoras endoteliales de la medula ósea (Jan *et al.*, 2024; Petrucci *et al.*, 2024).

Los tumores tienen la capacidad de interrumpir este balance normal de moléculas pro-angiogénicas y anti-angiogénicas que caracteriza la angiogénesis fisiológica de tejidos en desarrollo, también conocida como el “switch angiogénico”. La formación de tumores regula de manera positiva factores de crecimiento como el VEGF, el factor de crecimiento de fibroblastos (FGF) y el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF). Estos factores participan

en la proliferación de las células endoteliales, los pericitos, fibroblastos asociados a tumores. La vasculogénesis involucra la destrucción de la membrana basal, remodelación de la matriz extracelular, desprendimiento de los pericitos, células endoteliales diferenciadas para mantener una angiogénesis activa y eventualmente inducir proliferación tumoral y metástasis (Biller, 2014; Liu *et al.*, 2023).

La administración de la QM puede inhibir la angiogénesis y vasculogénesis por diferentes vías, incluida la reducción de la proliferación y circulación de células endoteliales bloqueando la diferenciación de células endoteliales inmaduras y modulando factores pro-angiogénicos y anti-angiogénicos (Petrucci *et al.*, 2024).

2. 7. 2. 2. 3. Activación del sistema inmunitario antitumoral

La investigación en inmunología veterinaria en el cáncer ha revelado que, al igual que en humanos, el sistema inmunitario de los animales puede reconocer antígenos específicos del cáncer y establecer una respuesta citotóxica. El principal objetivo de la respuesta inmunitaria frente al cáncer es la destrucción de las células cancerosas. Los protagonistas en este proceso son los linfocitos T citotóxicos (LTC) y las células natural killer (NK) capaces de destruir estas células cancerosas mediante dos vías principales: la primera es provocada por la exocitosis de gránulos como la perforina y enzimas asociadas a gránulos (granzimas). La segunda vía es a través del sistema ligando de muerte/receptor. Sin embargo, el cáncer tiene la capacidad de suprimir la respuesta inmunitaria, produciendo citocinas inmunosupresoras o reclutando células T reguladoras (Treg) que inhiben la actividad antitumoral (Kim *et al.*, 2012; Martínez-Lostao *et al.*, 2015; Fonseca-Alves *et al.*, 2024).

La QM puede reducir células inmunosupresoras como las Treg y restablecer la función de células T y NK en pacientes con cáncer, lo que favorece un mejor control sobre la progresión tumoral (Martorana *et al.*, 2024). En un estudio, se probaron dos diferentes dosis una a 12.5 mg/m²/día y 15 mg/m²/día por 28 días, se mostraron resultados en la disminución de Treg en ambas dosis, además, cuando los perros recibieron la dosis 15 mg/m²/día se observaron resultados en la disminución significativa de la densidad de los vasos sanguíneos en el tejido tumoral, lo cual indica que a esta dosis puede haber efecto inmunomodulador y antiangiogénico. Cabe destacar que ninguno de los pacientes tuvo efectos adversos severos (Burton *et al.*, 2011).

Otro mecanismo de acción que se atribuye a la QM es el efecto citotóxico directo a las células cancerosas, especialmente las células madre cancerosas (CMCs), también conocidas como células iniciadoras de tumores. Las CMCs tienen la capacidad de autorrenovarse y generar diferentes tipos celulares. Esta diversidad celular es fundamental para la proliferación tumoral, la invasión y la metástasis. (Gaspar *et al.*, 2018; Petrucci *et al.*, 2024).

2. 8. Yodo molecular

El yodo es un componente esencial de las tironinas y, por lo tanto, la mayoría de los estudios se han enfocado en su captación y metabolismo en la función tiroidea (Aceves *et al.*, 2021). Sin embargo, numerosas investigaciones apuntan a que el yodo en su forma molecular participa en la fisiología normal y patológica de otros órganos como la glándula mamaria, estómago, próstata, ovarios y páncreas (Aceves *et al.*, 2021).

Estudios recientes han mostrado que el tracto gastrointestinal es capaz de captar yodo como yodo molecular (I₂) y como yoduro (I-) (Aceves & Anguiano, 2009), y que existe una distribución y captación diferencial en tejidos como la

sangre, el estómago, la piel, la tiroides y la glándula mamaria (Anguiano *et al.*, 2007). Más aún, el I⁻ parece ser más eficiente en corregir el proceso bocígeno de la tiroides asociado a deficiencias de yodo, mientras que, en la glándula mamaria y otros tejidos, el I₂ es captado y ejerce efectos relacionados con la proliferación y diferenciación celular (Eskin *et al.*, 1995).

El amplio consumo en países asiáticos de algas marinas se ha asociado a la baja incidencia (aproximadamente 3 a 10 veces menos) de enfermedades mamarias, prostáticas y cardiovasculares en comparación con el resto del mundo. Estas algas son ricas en yodo (30,000 veces más que cualquier otro ser vivo) y contienen diferentes formas químicas del compuesto (I⁻, I₂ y yodo unido a proteínas). Los japoneses consumen 25 veces más yodo que el occidente (5280 µg/día vs 166-209 µg/día en Estados Unidos o Inglaterra) (Cann *et al.*, 2000). La importancia del I₂ en el tratamiento de disfunciones benignas de glándula mamaria como la fibrosis ha sido corroborada en protocolos clínicos (Ghent *et al.*, 1993; Eskin *et al.*, 1995).

III. Antecedentes específicos

Nuestro grupo de investigación tiene una amplia experiencia en el análisis del I₂ en diversas células cancerosas captadoras de yodo (Aceves *et al.*, 2021). El antecedente directo más cercano a este estudio se refiere al tratamiento en coadyuvancia de I₂ junto con terapia neoadyuvante con Doxorrubicina (DOXO) en perras con cáncer mamario. Dicho trabajo mostró que la suplementación de I₂ mejoró la respuesta antineoplásica de la DOXO evitando la quimiorresistencia. Atenuó los efectos adversos y aumentó el tiempo libre de enfermedad (Zambrano-Estrada *et al.*, 2018).

Otro estudio más reciente en un modelo murino de cáncer mamario permitió analizar el suplemento de I₂ en un esquema metronómico con CFF. Los

resultados mostraron que la combinación CFF+I₂ tuvo una mejor respuesta antineoplásica disminuyendo significativamente el tamaño tumoral (50% vs 75%). Además, se observó una potenciación en la respuesta inmunológica antitumoral y una ausencia total en los efectos adversos de CFF relacionada con cistitis hemorrágica (Delgado-González *et al.*, 2024). La CFF, ha sido utilizada eficazmente en perros a dosis metronómicas en distintos tipos de cáncer. Los resultados han corroborado efectos anti-angiogénicos y activación moderada de la respuesta inmune antitumoral con pocos efectos secundarios (Lana *et al.*, 2007; Leach *et al.*, 2012).

Por todo lo anterior, en este proyecto se pretende utilizar el suplemento oral de I₂ en co-administración con CFF metronómica en el cáncer mamario canino.

IV. Hipótesis

La suplementación de I₂ en la terapia metronómica con CFF (CFF+I₂) tiene un efecto adyuvante contra el cáncer mamario canino, mejorando la respuesta antineoplásica y disminuyendo los efectos secundarios.

V. Objetivos

Objetivo general

Analizar los efectos antineoplásicos y de salud durante la administración de CFF+P y CFF+I₂ como tratamiento contra el cáncer mamario canino.

Objetivo específico

Analizar el efecto de la CFF+P y CFF+I₂ en la respuesta tumoral (tamaño e histopatología) y los efectos adversos (estado general, cambio en peso corporal y cistitis hemorrágica).

VI. Metodología

El protocolo del presente trabajo fue aprobado por el Comité de Bioética de la Facultad de Ciencias Naturales, oficio **086FCN2023**.

La etapa clínica del estudio se llevó a cabo en el Hospital Veterinario de Especialidades en Pequeñas Especies de la Universidad Autónoma de Querétaro (HVEPE/UAQ) y en el Hospital General Veterinario (privado).

En el HVEPE/UAQ, se realizó la evaluación clínica que abarca exploración física, evaluación macroscópica de los tumores, toma de muestra del tumor mediante Aspiración Citológica con Aguja Delgada (ACAD), obtención de muestra sanguínea y de orina, así como estudios de electrocardiograma e imagenología (rayos X y ultrasonido) y en el Hospital General Veterinario se llevó a cabo la mastectomía y el cuidado post-quirúrgico.

El procesamiento y la interpretación de muestras clínicas (hemograma, química sanguínea, examen general de orina y estudio de función tiroidea) se realizaron en el Laboratorio Biocel.

El procesamiento y diagnóstico citológico e histopatológico, así como la preparación del protocolo quimioterapéutico, se realizaron en el Laboratorio de Patología Veterinaria de la Universidad Autónoma de Querétaro.

El análisis molecular de los tumores y la determinación de I₂ en orina se realizaron en el Laboratorio de Metabolismo Energético del Instituto de Neurobiología de la Universidad Nacional Autónoma de México (INB/UNAM).

Se difundió una convocatoria en carteles, lonas, radio UAQ y prensa de Querétaro, invitando a las personas que tuvieran perras con nódulos neoplásicos en glándulas mamarias, a que acudieran a una primera evaluación para realizar

el diagnóstico de cáncer mamario mediante citología. Los animales en estudio fueron incluidas con previo consentimiento informado del propietario.

Se establecieron ciertos criterios para que las perras pudieran integrarse o permanecer en este estudio:

Criterios de inclusión:

- Perras con cáncer mamario.
- Perras en condiciones aceptables de salud.

Criterios de exclusión:

- Perras con problemas tiroideos, hepáticos, renales o cualquier enfermedad que comprometa la vida de la paciente.
- Perras con tratamiento oncológico previo.
- Tumores mayores a 10 centímetros de diámetro o que no permitan realizar las actividades de la vida diaria.

Criterios de eliminación

- Intolerancia al yodo molecular.
- No apego al tratamiento.
- Animales que requirieron cambio de tratamiento.

Este estudio es prospectivo, doble ciego y contó con una población de 50 perras que recibieron ciclofosfamida (CFF), se dividió en: grupo control CFF+P ($n=25$) y experimental CFF+I₂ ($n=25$). El análisis del tamaño de muestra por Gpower indicó una muestra mínima de 16 individuos por grupo; sin embargo, y dado que no se sabe que haya una gran cantidad de deserción, nos fijamos en una población de 50 individuos (25 por grupo).

El estudio se realizó en cuatro etapas:

- Evaluación inicial: Se realizó la exploración física, evaluación macroscópica de los tumores y el diagnóstico de cáncer mamario mediante aspiración citológica con aguja delgada. También se tomaron muestras sanguíneas para estudios de hemograma y química sanguínea de 5 elementos (urea, creatinina, alanina aminotransferasa -ALT-, aspartato aminotransferasa -AST- y fosfatasa alcalina) y orina para su respectivo uranálisis, además de estudios de imagenología (radiografía de tórax y ultrasonido abdominal) y electrocardiograma, determinando así la etapa clínica de la enfermedad y el estado de salud de cada paciente.

- Tratamiento: Ambos grupos: control y experimental fueron tratados con cápsulas de CFF (15 mg/m^2) para su administración vía oral, cada 24 horas, durante 28 días. Al grupo experimental se le proporcionó I_2 (5mg/día) y al grupo de placebo (colorante vegetal) cada 24 horas en conjunto con el alimento. Se realizaron evaluaciones físicas cada dos semanas.

- Evaluación final y mastectomía: Para la evaluación final y procedimiento quirúrgico de mastectomía, se abrió su expediente para conocer a que grupo pertenece la paciente.

- Seguimiento: Posterior a la mastectomía hubo un seguimiento de 30 días. Se continuó proporcionando el I_2 a todas las pacientes por diez meses más.

Preparación del tratamiento. Consistió en la preparación del tratamiento en capsulas de gel contenido ciclofosfamida (15 mg/m^2) y furosemida (2 mg/kg), este procedimiento se realizó con medidas de bioseguridad utilizando guantes, cubrebocas y bata para evitar la contaminación del tratamiento. Las cápsulas se llenaron cuidadosamente a la dosis correspondiente para cada paciente, empleando una balanza analítica para asegurar la precisión en el peso de cada cápsula.

Medición del consumo de yodo

Debido a su alta especificidad y sensibilidad al yoduro, tal como a su fácil automatización y correlación con los métodos estándar y acorde a la reacción de Sandell-Kolthoff, se utilizó un electrodo de yoduro (electrodo selectivo de ion) para la determinación de yodo en orina.

Evaluación anatómico patológica.

El diagnóstico inicial de los tumores se realizó mediante citología del tumor primario por aspiración con aguja delgada (ACAD) y los extendidos se tiñeron con Papanicolau. El examen macroscópico de los tumores se efectúo en cada cita con la paciente; para evaluar el comportamiento biológico del tumor, la medición se realizó con un vernier. Posteriormente se hizo la correlación histopatológica con la biopsia obtenida de la mastectomía.

Análisis estadístico. Los resultados se expresaron como media ± desviación estándar (DE). Se empleó un análisis de varianza (ANOVA) de una vía, seguido de pruebas *post hoc* para determinar diferencias significativas entre los grupos ($P<0.05$). Además, se utilizó la prueba t de Student para comparar las medias. El símbolo * indica diferencias significativas entre grupos. Todos los análisis se realizaron utilizando el software GraphPad v8.0.02.

VII. Resultados

Se valoraron clínicamente a 76 perras, de las cuales 74 resultaron tumores mamarios, 57 fueron de carácter maligno (77%) y 17 benignos (23%). En la Figura 5 se describe la información de veinte perras con cáncer mamario que cumplieron con los criterios de aceptación y que terminaron la fase 1.

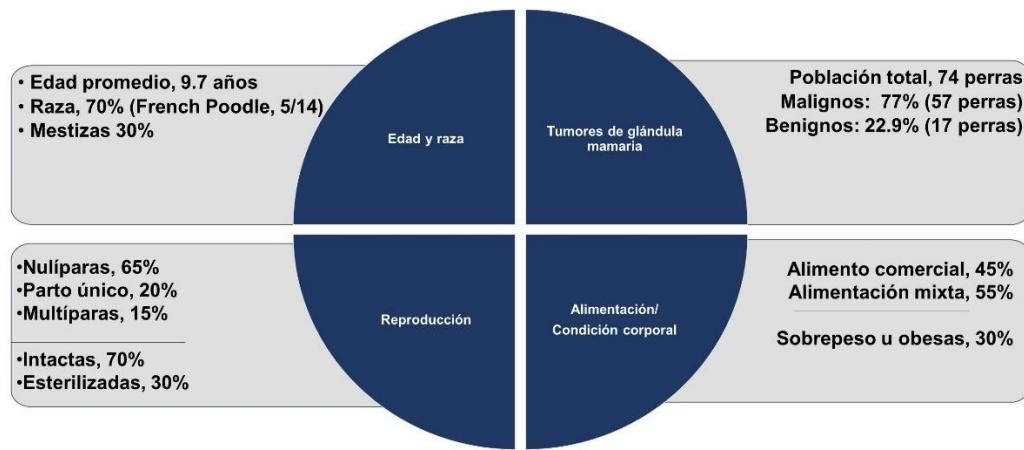


Figura 5. Datos clínicos de la población estudiada.

Los resultados muestran mayor presentación de casos (70%) en perras de raza, siendo la raza Poodle la más propensa y la edad promedio de 9.7 años. En cuanto al tipo de alimento, el 45 % ingirió alimento comercial y 55% de las perras las mantenían con una dieta mixta. La mayoría de las perras cuentan con un índice de condición corporal deseable, es decir entre 4 y 5 en escala de 9 y solo el 30% se encontraban en sobrepeso u obesas en escala de 8/9 (Chun *et al.*, 2019). Un dato interesante es que el 65% fueron nulíparas, con un parto el 20% y multiparas el 15%.

Para asegurar la ingesta de I₂ se recolectaron muestras de orina antes, durante y al final de los tratamientos. La medición fue mediante un electrodo selectivo de iones de yodo. También se monitoreó la función tiroidea mediante la medición sérica. En la figura 6 se muestran las concentraciones incrementadas de yodo en los períodos medio y final en los grupos de CFF+I₂, sin embargo, la suplementación con I₂ no afectó a la función tiroidea (Figura 6).

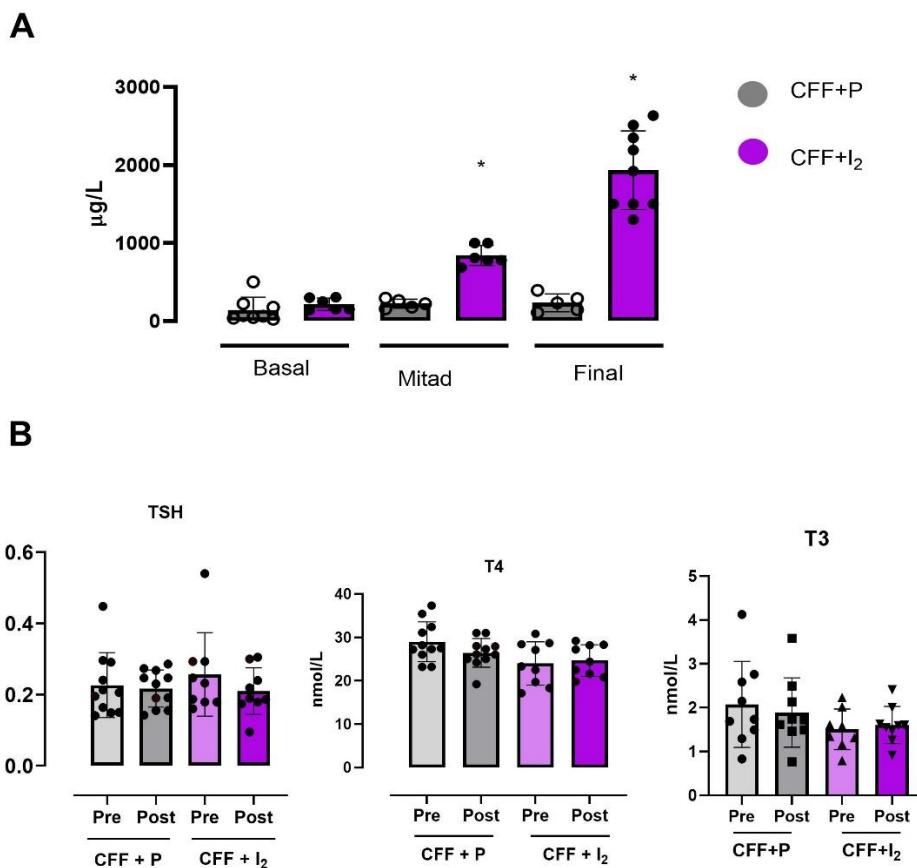


Figura 6. Ingesta de yodo y estatus tiroideo. A. Concentración urinaria de yodo medida mediante un electrodo selectivo de iones de yodo. B. Niveles sanguíneos de hormona estimulante de la tiroides (TSH), tiroxina total (T4) y triyodotironina (T3) pre y post tratamiento.

La Figura 7 muestra que el cambio de peso corporal durante el estudio no varió entre los grupos, indicando que los tratamientos no afectaron de manera severa la salud de los animales. Los efectos adversos se clasificaron de acuerdo a los criterios de terminología común para efectos adversos tras la terapia experimental en perros y gatos, del grupo Cooperativo de Oncología Veterinaria (VCOG-CTCAE v2 (ver anexo 1).

La Figura 7 describe los efectos adversos característicos de la quimioterapia con CFF tales como vómito, diarrea, letargia, náusea, hiporexia y alopecia. El grupo control presenta 5 pacientes con efectos grado 2 y en el grupo experimental 3 (Figura 7). Ningún participante mostró cistitis hemorrágica.

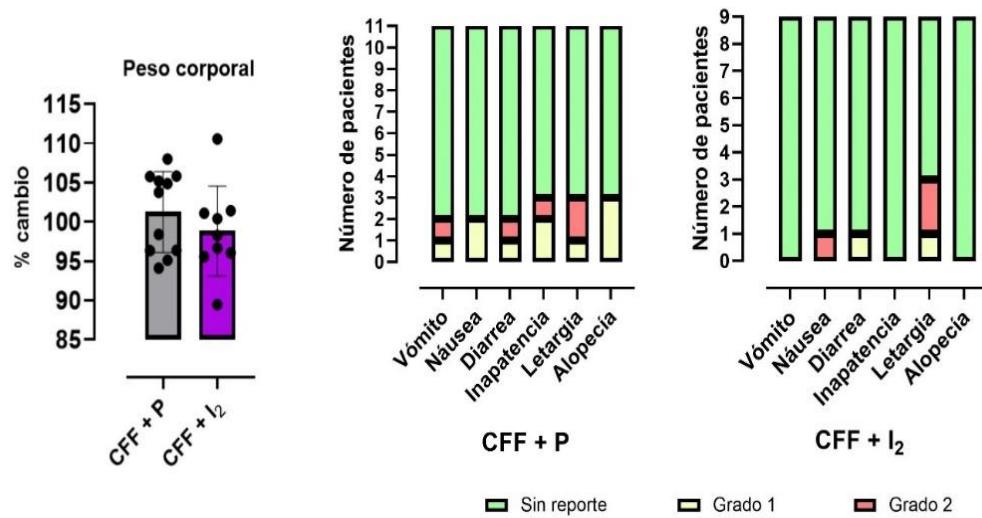


Figura 7. Efectos adversos observados: peso corporal ($P<0.6$) y signología de acuerdo a los parámetros establecidos por el grupo de Oncología Cooperativa Veterinaria: Criterios de terminología común para efectos adversos (VCOG-CTCAE v2) (LeBlanc *et al.*, 2021).

Sin embargo, con respecto a la etapa clínica inicial y final los resultados muestran que una perra del grupo control avanzó a la etapa V (Cuadro 4).

Cuadro 4. Estadio clínico pre y post tratamiento.

Estadio clínico	Número de animales	
	Inicial	Final
I	4	4
II	3	4
III	8	7
IV	1	0
V	0	1

Por otro lado, en el ámbito tumoral, se obtuvo una muestra de 28 tumores totales (15 del CFF+P y 13 CFF+I₂). Los tumores de origen epitelial se presentaron en mayor porcentaje (71,4%) y el 28,6% de origen mixto. Con respecto al grado histológico, 22 tumores resultaron en un grado histológico bien diferenciado (78.5%) y solo 4 moderadamente diferenciados (21.5%).

El tipo de cáncer mamario más frecuente fue el carcinoma simple en sus diferentes variantes, presentándose en un 42,8%. La mayoría de los tipos de tumor fueron quimiorresistentes y los de mejor respuesta fueron los carcinomas simples. La quimiorresistencia fue considerablemente menor en el grupo de I₂ con un 15,4% en comparación con el grupo control, en donde fue del 50% (Figura 8).

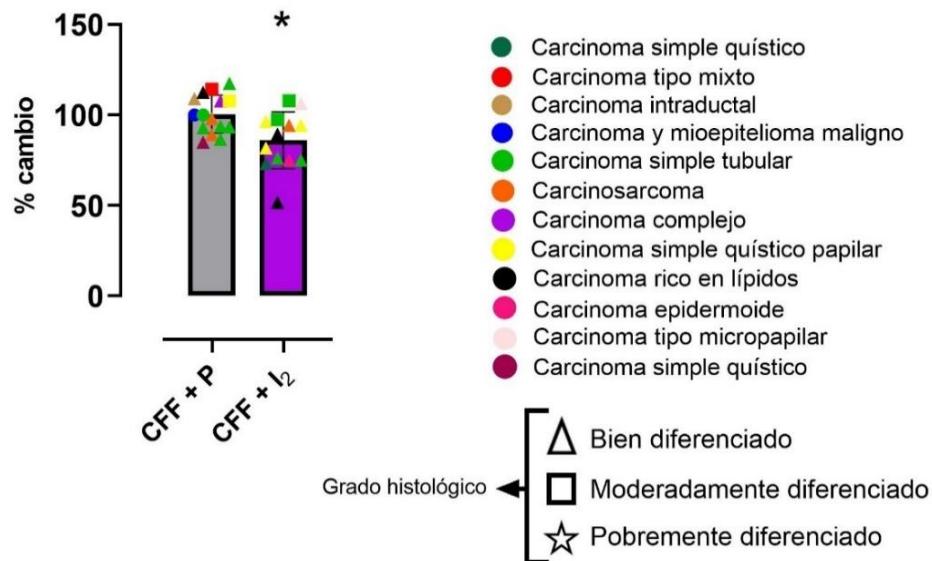


Figura 8. Tamaño tumoral residual * P<0.05.

Los mensajeros moleculares se analizaron por la técnica de amplificación de la polimerasa (RT-PCR). La Figura 9 muestra la integridad del ácido ribonucleico ribosomal (ARNr), banda superior 28S y banda inferior 18S.

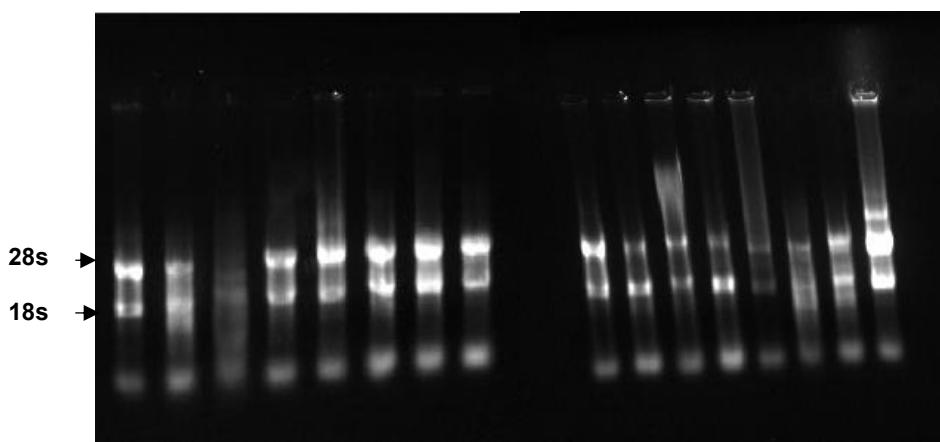


Figura 9. Fotografía de gel de agarosa (1X) mostrando diferentes muestras tumorales de RNA total.

La Figura 10 muestra la expresión de los genes Bax, Bcl-2 y PPAR γ de ambos tratamientos. Se observa que la suplementación del I₂ incrementa significativamente la expresión de Bax ($p < 0.05$) en comparación con el grupo control. Por otro parte, no se encontraron diferencias significativas en la expresión de Bcl-2 entre ambos grupos. No obstante, el índice Bax/Bcl-2 fue significativamente mayor en el grupo CFF+I₂ ($p < 0.05$), lo cual sugiere inducción apoptótica. La expresión de los receptores PPAR γ mostró un aumento significativo en el grupo con I₂ respecto al grupo control ($p < 0.05$), los cuales están relacionados con mecanismos de diferenciación celular inducidos (Aceves *et al.*, 2021).

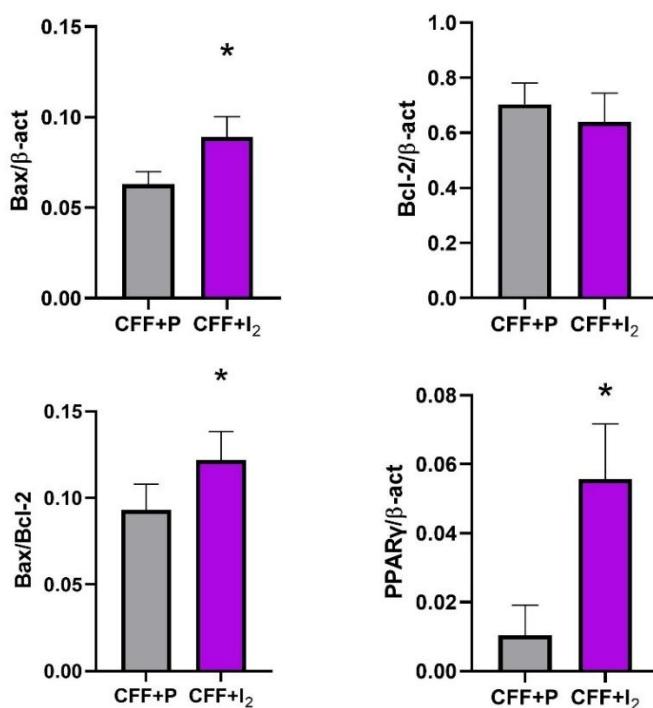


Figura 10. Expresión génica de muestras tumorales en ambos tratamientos.

VIII. Discusión

El objetivo de este estudio fue analizar el efecto del suplemento oral de I₂ en la terapia metronómica con ciclofosfamida en el cáncer mamario canino.

Los datos clínicos de las participantes mostraron que la edad promedio de presentación del cáncer mamario fue de 9.7 años, lo cual concuerda con la conocida incidencia en edades tardías (Zatloukal *et al.*, 2005; Pastor *et al.*, 2018). Por otra parte, la dieta y la condición corporal son factores que influyen en el desarrollo de TMC. En nuestro estudio, la mayoría de las perras recibía una alimentación mixta (comercial y casera), y presentaban una condición corporal óptima. Estos datos sobre el tipo de dieta coinciden parcialmente con lo reportado por Alenza *et al.*, (1998), quienes observaron una mayor prevalencia de TMC en pacientes alimentadas con comida casera. Sin embargo, a diferencia de ese estudio, en nuestra muestra, el porcentaje de animales con obesidad fue bajo, lo que no respalda la asociación entre obesidad y riesgo de TMC planteada por dichos autores.

En relación al estatus reproductivo, es notorio que el 65% eran nulíparas, sin embargo, se requiere profundizar en el tema ya que no existen datos que lo relacionen; El 70% de la población se encontraban enteras al momento del diagnóstico de CMC, situación que coincide con otros autores que indican que las perras enteras tienen un riesgo mayor que las esterilizadas antes de los primeros dos años de edad (Schneider *et al.*, 1969; Beaudu-Lange *et al.*, 2021). Es importante señalar que en nuestro estudio la esterilización de las participantes fue de manera tardía por patologías uterinas.

Con respecto a los efectos adversos asociados al tratamiento oncológico, los resultados obtenidos sugieren que tanto el grupo control (CFF+P) como el suplementado con yodo (CFF+I₂) toleraron bien la quimioterapia, ya que no hubo pacientes con efectos adversos severos (3, 4 ó 5 según VCOG-CTCAE). Sin embargo, en 5 pacientes del CFF+P y tres pacientes del grupo CFF+I₂ reportaron

efectos adversos moderados (grado 2). Cabe señalar que ningún paciente necesitó cuidados intensivos. Esta atenuación de los efectos adversos por el suplemento de I₂ concuerda con estudios previos en modelos murinos y caninos en los cuales se observó que el suplemento de I₂ atenúa los efectos adversos provocados por la quimioterapia con DOXO y CFF (Zambrano-Estrada *et al.*, 2018; Delgado-González *et al.*, 2024). Este efecto protector se asoció a la activación de mecanismos antioxidantes directos (disminución de la lipoperoxidación) e indirectos (expresión de la enzima antioxidante superóxido dismutasa 1; SOD1), mostrándose una significativa atenuación en la inflamación del epitelio de la vejiga (Almalag *et al.*, 2021; Delgado-González *et al.*, 2024). Nosotros no incluimos esta medición, pero puede considerarse como un mecanismo general del I₂.

En relación al estatus tiroideo, los niveles de yodo en orina en el grupo experimental suplementado con I₂ superó los 1300 µg/L, mientras que en el grupo control los valores son similares a los descritos en perros con dietas estándar (150-250 µg/L). Las concentraciones séricas de TSH, T4 y T3 no mostraron cambios con los tratamientos y fueron similares a las descritas en animales eutiroideos (Zambrano-Estrada *et al.*, 2018). Estos datos indican que ni la quimioterapia ni el consumo moderado de yodo modificaron el estado tiroideo.

Respecto al ámbito tumoral, se obtuvieron 28 tumores en total, los tumores de origen epitelial fueron los más comunes (71.4%) y 28.6% fueron de origen mixto, coincidiendo con los hallazgos de otros autores en los que observaron un mayor porcentaje de tumores epiteliales (Tavasoly *et al.*, 2013; Salas-Araujo *et al.*, 2016; Pastor *et al.*, 2018). En cuanto al grado histológico, en este estudio se identificaron 22 tumores de grado bajo y solo 2 de grado moderado. Estos resultados difieren de los reportados por quienes observaron un bajo porcentaje de tumores de grado bajo. Sin embargo, nuestros datos

coinciden con los reportados en nuestro estudio anterior, mostrando una mayor proporción de tumores de bajo grado (Zambrano-Estrada *et al.*, 2018), indicando que se trata de poblaciones similares en el estado de Querétaro.

El tipo de tumor más frecuente fue el carcinoma simple (42,8%) en sus diferentes variantes; este resultado se alinea con lo reportado en otros estudios en México, donde el carcinoma simple fue el tipo histológico más frecuente identificado (Salas-Araujo *et al.*, 2016; Zambrano-Estrada *et al.*, 2018).

Actualmente, no existen estudios previos que evalúen la quimioterapia metronómica con ciclofosfamida en CMC; sin embargo, Milevoj *et al.*, (2022) aplicaron un protocolo parecido en tumores orales, observando beneficio clínico en el 50% de caninos al mes y en un 33% a los tres meses de tratamiento. Además, el efecto adverso presentado con mayor frecuencia fue la cistitis hemorrágica. Por otro lado Burton *et al.*, (2011), demostraron que dosis bajas diariamente de ciclofosfamida (15 mg/m²/día) no provocaron efectos adversos en ningún canino; pero disminuyó el número y la proporción de linfocitos T regulados (Treg) y redujo la densidad microvascular tumoral en sarcomas de tejidos blandos (Doloff & Waxman, 2012; Denies *et al.*, 2017). Estos efectos antiangiogénicos e inmunocitotóxicos de la CFF metronómica también se observaron en el cáncer mamario murino (Delgado-González *et al.*, 2024).

Aunado a lo anterior, nuestro trabajo aporta evidencia relevante en el CMC, mostrando que el suplemento de I₂ disminuye significativamente la quimiorresistencia (15,4%) en comparación con el grupo CFF+P (50%). Estos resultados son concordantes con lo reportado por Zambrano-Estrada *et al.*, (2018) utilizando quimioterapia convencional en CMC y en terapia metronómica CFF+I₂, en murinos (Delgado-González *et al.*, 2024). Los mecanismos propuestos para estos efectos incluyen la yodación del ácido araquidónico (AA) que se encuentra en concentraciones elevadas en las células cancerosas y que

da lugar al yodolípido conocido como 6 yodolactona -6-IL- (Nava-Villalba & Aceves, 2014). Esta 6-IL es un ligando activador de los receptores PPAR γ . Estos receptores son factores de transcripción relacionados con procesos de diferenciación, anti-angiogénesis y apoptosis (Figura 11) (Aceves *et al.*, 2009; Nuñez-Anita *et al.*, 2009; Chen *et al.*, 2024). En el presente trabajo se observó que la suplementación del I₂ promovió la apoptosis, evidenciada por el incremento en la expresión del gen Bax y por el índice apoptótico Bax/Bcl-2, el cual fue significativamente mayor en el grupo con I₂. Estos hallazgos sugieren que la suplementación de I₂ contribuye a la inhibición del crecimiento tumoral. Por otro lado, se observó un aumento en la expresión de PPAR γ , lo que refuerza la idea de que el I₂ ejerce sus efectos antineoplásicos a través de la activación de estos receptores.

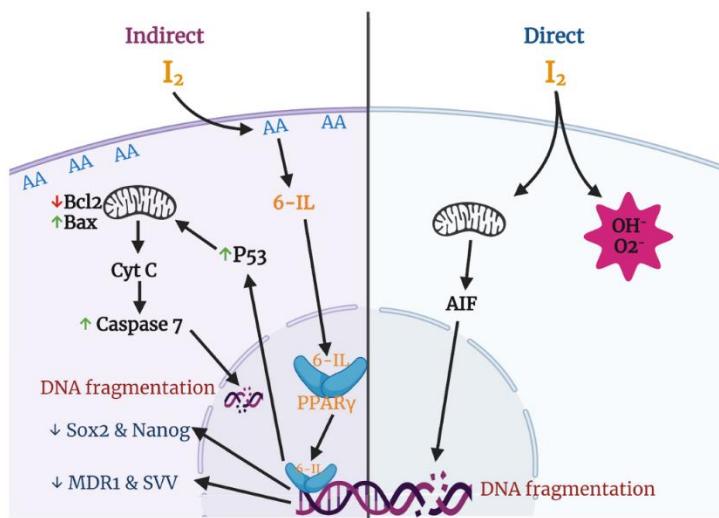


Figura 11. Mecanismos apoptóticos y de diferenciación del I₂. Tomado de: Aceves *et al.*, 2021.

IX. Conclusiones

1. La suplementación del I₂ mejora la respuesta antineoplásica de la CFF metronómica disminuyendo el tamaño tumoral y la quimiorresistencia.
2. Independientemente del grupo, la mejor respuesta al tratamiento se observó en los tumores de bajo grado histológico.
3. Ningún tratamiento modificó el peso corporal y la función tiroidea.
4. Los efectos adversos fueron moderados en el grupo control y se atenuaron con el suplemento de I₂.

X. Perspectivas

Para determinar los mecanismos moleculares involucrados en las respuestas antineoplásicas de los tratamientos, se determinarán los siguientes parámetros:

- 1) Tipo tumoral (receptor de estrógenos, HER2).
- 2) Quimiorresistencia (survivina), invasión (uPA) y angiogénesis (VEGF)
- 3) Angiogénesis (vascularización tumoral (CD31)).
- 4) seguimiento de sobrevida y respuesta libre de enfermedad por al menos 10 meses.

XI. Bibliografía

Aceves, C., & Anguiano, B. (2009). Is Iodine an Antioxidant and Antiproliferative Agent for the Mammary and Prostate Glands? En *Comprehensive Handbook of Iodine* (pp. 249–257). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374135-6.00026-1>

Aceves, C., García-Solís, P., Arroyo-Helguera, O., Vega-Riveroll, L., Delgado, G., & Anguiano, B. (2009). Antineoplastic effect of iodine in mammary cancer: Participation of 6-iodolactone (6-IL) and peroxisome proliferator-

activated receptors (PPAR). *Molecular Cancer*, 8(1), 33.
<https://doi.org/10.1186/1476-4598-8-33>

Aceves, C., Mendieta, I., Anguiano, B., & Delgado-González, E. (2021). Molecular Iodine Has Extrathyroidal Effects as an Antioxidant, Differentiator, and Immunomodulator. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(3), Article 3.
<https://doi.org/10.3390/ijms22031228>

Alenza, D. P., Rutteman, G. R., Peña, L., Beynen, A. C., & Cuesta, P. (1998). Relation between Habitual Diet and Canine Mammary Tumors in a Case-Control Study. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 12(3), 132–139.
<https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.1998.tb02108.x>

Allison, R. W., & Maddux, J. M. (2008). Subcutaneous Glandular Tissue: Mammary, Salivary, Thyroid, and Parathyroid. En *Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat* (3rd ed.). Mosby

Almalag, H. M., Alasmari, S. S., Alrayes, M. H., Binhameed, M. A., Alsudairi, R. A., Alosaimi, M. M., Alnasser, G. A., Abuzaid, R. A., Khalil, N., Abouzaid, H. H., & Alarfaj, A. S. (2021). Incidence of hemorrhagic cystitis after cyclophosphamide therapy with or without mesna: A cohort study and comprehensive literature review. *Journal of Oncology Pharmacy Practice: Official Publication of the International Society of Oncology Pharmacy Practitioners*, 27(2), 340–349. <https://doi.org/10.1177/1078155220920690>

Anguiano, B., García-Solís, P., Delgado, G., & Aceves Velasco, C. (2007). Uptake and gene expression with antitumoral doses of iodine in thyroid and mammary gland: Evidence that chronic administration has no harmful effects. *Thyroid: Official Journal of the American Thyroid Association*, 17(9), 851–859. <https://doi.org/10.1089/thy.2007.0122>

Banys-Paluchowski, M., Ruckhäberle, E., Schütz, F., Krawczyk, N., & Fehm, T. (2017). Metronomic Chemotherapy for Primary Non-Metastatic Breast Cancer – a Systematic Review of the Literature. *Geburtshilfe Und Frauenheilkunde*, 77(02), 142–148. <https://doi.org/10.1055/s-0043-100388>

Beaudu-Lange, C., Larrat, S., Lange, E., Lecoq, K., & Nguyen, F. (2021). Prevalence of Reproductive Disorders including Mammary Tumors and Associated Mortality in Female Dogs. *Veterinary Sciences*, 8(9), 184. <https://doi.org/10.3390/vetsci8090184>

Benavente, A., Bianchi, P., & Aba, A. (2016). Canine Mammary Tumors: Risk Factors, Prognosis and Treatments. *Journal of Veterinary Advances*, 6(8), 1291. <https://doi.org/10.5455/jva.20160916045115>

Biller, B. (2014). Metronomic Chemotherapy in Veterinary Patients with Cancer. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 44(5), 817–829. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2014.05.003>

Burrai, G. P., Gabrieli, A., Moccia, V., Zappulli, V., Porcellato, I., Brachelente, C., Pirino, S., Polinas, M., & Antuofermo, E. (2020). A Statistical Analysis of Risk Factors and Biological Behavior in Canine Mammary Tumors: A Multicenter Study. *Animals*, 10(9), Article 9. <https://doi.org/10.3390/ani10091687>

Burton, J. h., Mitchell, L., Thamm, D. h., Dow, S. w., & Biller, B. j. (2011). Low-Dose Cyclophosphamide Selectively Decreases Regulatory T Cells and Inhibits Angiogenesis in Dogs with Soft Tissue Sarcoma. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 25(4), 920–926. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2011.0753.x>

Cann, S. A., van Netten, J. P., & van Netten, C. (2000). Hypothesis: Iodine, selenium and the development of breast cancer. *Cancer Causes & Control*, 11(2), 121–127. <https://doi.org/10.1023/A:1008925301459>

Carvalho, P. T., Niza-Ribeiro, J., Amorim, I., Queiroga, F., Severo, M., Ribeiro, A. I., & Pinello, K. (2023). Comparative epidemiological study of breast cancer in humans and canine mammary tumors: Insights from Portugal. *Frontiers in Veterinary Science*, 10. <https://doi.org/10.3389/fvets.2023.1271097>

Cassali, G. D., Nakagaki, K. Y. R., Jark, P. C., Horta, R. dos S., Arias, A. C., Tellado, M. N., Estrela-Lima, A., Sueiro, F. A. R., Reys, M. P. dos, Wronski, J. G., Sierra, O. R., Kristancic, E. A., Decuadro, A., & Gómez, J. L. Á. (2024). Consensus on the diagnosis, prognosis, and treatment of canine and feline mammary tumors: Solid arrangement – 2023. *Brazilian Journal of Veterinary Pathology*, 17(3), 152–163. <https://doi.org/10.24070/bjvp.1983-0246.v17i3p152-163>

Cazzaniga, M. E., Cordani, N., Capici, S., Cogliati, V., Riva, F., & Cerrito, M. G. (2021). Metronomic Chemotherapy. *Cancers*, 13(9), Article 9. <https://doi.org/10.3390/cancers13092236>

Chen, M., Wang, H., Cui, Q., Shi, J., & Hou, Y. (2024). Dual function of activated PPAR γ by ligands on tumor growth and immunotherapy. *Medical Oncology*, 41(5), 114. <https://doi.org/10.1007/s12032-024-02363-z>

Chocteau, F., Abadie, J., Loussouarn, D., & Nguyen, F. (2019). Proposal for a Histological Staging System of Mammary Carcinomas in Dogs and Cats. Part 1: Canine Mammary Carcinomas. *Frontiers in Veterinary Science*, 6, 388. <https://doi.org/10.3389/fvets.2019.00388>

Chun, J. L., Bang, H. T., Ji, S. Y., Jeong, J. Y., Kim, M., Kim, B., Lee, S. D., Lee, Y. K., Reddy, K. E., & Kim, K. H. (2019). A simple method to evaluate body condition score to maintain the optimal body weight in dogs. *Journal of Animal Science and Technology*, 61(6), 366–370.
<https://doi.org/10.5187/jast.2019.61.6.366>

Costa-Santos, K., Damasceno, K., Portela, R. D., Santos, F. L., Araújo, G. C., Martins-Filho, E. F., Silva, L. P., Barral, T. D., Santos, S. A., & Estrela-Lima, A. (2019). Lipid and metabolic profiles in female dogs with mammary carcinoma receiving dietary fish oil supplementation. *BMC Veterinary Research*, 15(1), 401.
<https://doi.org/10.1186/s12917-019-2151-y>

Cunha, S., Silva, F., Corgozinho, K., Silva, K., & Ferreira, A. (2017). Adverse Effects of Chemotherapy in Dogs. *World s Veterinary Journal*, 7(3), 74.
<https://doi.org/10.5455/wvj.20170896>

da Silva, E. M. G., dos Santos, T. R., & Silva, M. J. B. (2023). Identifying the Risk Factors for Malignant Mammary Tumors in Dogs: A Retrospective Study. *Veterinary Sciences*, 10(10), Article 10. <https://doi.org/10.3390/vetsci10100607>

Delgado-González, E., Ríos-Arellano, E. de los, Anguiano, B., & Aceves, C. (2024). Molecular Iodine Improves the Efficacy and Reduces the Side Effects of Metronomic Cyclophosphamide Treatment against Mammary Cancer Progression. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(16), Article 16.
<https://doi.org/10.3390/ijms25168822>

Denies, S., Cicchelero, L., de Rooster, H., Daminet, S., Polis, I., Van de Maele, I., & Sanders, N. N. (2017). Immunological and angiogenic markers during metronomic temozolomide and cyclophosphamide in canine cancer patients. *Veterinary and Comparative Oncology*, 15(2), 594–605.
<https://doi.org/10.1111/vco.12203>

DeTora, M., & McCarthy, R. J. (2011). Ovariohysterectomy versus ovariectomy for elective sterilization of female dogs and cats: Is removal of the uterus necessary? *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 239(11), 1409–1412. <https://doi.org/10.2460/javma.239.11.1409>

Doloff, J. C., & Waxman, D. J. (2012). VEGF receptor inhibitors block the ability of metronomically dosed cyclophosphamide to activate innate immunity-induced tumor regression. *Cancer Research*, 72(5), 1103–1115. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-11-3380>

Edmunds, G., Beck, S., Kale, K. U., Spasic, I., O'Neill, D., Brodbelt, D., & Smalley, M. J. (2023). Associations Between Dog Breed and Clinical Features of Mammary Epithelial Neoplasia in Bitches: An Epidemiological Study of Submissions to a Single Diagnostic Pathology Centre Between 2008–2021. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, 28(1), 6. <https://doi.org/10.1007/s10911-023-09531-3>

Elmslie, R. e., Glawe, P., & Dow, S. w. (2008). Metronomic Therapy with Cyclophosphamide and Piroxicam Effectively Delays Tumor Recurrence in Dogs with Incompletely Resected Soft Tissue Sarcomas. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 22(6), 1373–1379. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2008.0179.x>

Eskin, B. A., Grotkowski, C. E., Connolly, C. P., & Ghent, W. R. (1995). Different tissue responses for iodine and iodide in rat thyroid and mammary glands. *Biological Trace Element Research*, 49(1), 9–19. <https://doi.org/10.1007/BF02788999>

Fonseca-Alves, C. E., Queiroga, F. L., & Massoco, C. D. O. (2024). Editorial: New insights in veterinary cancer immunology. *Frontiers in Veterinary Science*, 11, 1440527. <https://doi.org/10.3389/fvets.2024.1440527>

Gaspar, T. B., Henriques, J., Marconato, L., & Queiroga, F. L. (2018). The use of low-dose metronomic chemotherapy in dogs—Insight into a modern cancer field. *Veterinary and Comparative Oncology*, 16(1), 2–11. <https://doi.org/10.1111/vco.12309>

Ghent, W. R., Eskin, B. A., Low, D. A., & Hill, L. P. (1993). Iodine replacement in fibrocystic disease of the breast. *Canadian Journal of Surgery. Journal Canadien De Chirurgie*, 36(5), 453–460.

Globocan. (2024). Age-Standardized Rate (World) per 100 000, incidence, females, in 2022. In *World Health Organization*. World Health Organization.

https://gco.iarc.fr/today/en/dataviz/bars?mode=cancer&group_populations=1&sexes=2

Goldschmidt, M., Peña, L., Rasotto, R., & Zappulli, V. (2011). Classification and Grading of Canine Mammary Tumors. *Veterinary Pathology*, 48(1), 117–131. <https://doi.org/10.1177/0300985810393258>

Gray, M., Meehan, J., Martínez-Pérez, C., Kay, C., Turnbull, A. K., Morrison, L. R., Pang, L. Y., & Argyle, D. (2020). Naturally-Occurring Canine Mammary Tumors as a Translational Model for Human Breast Cancer. *Frontiers in Oncology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.00617>

Hanahan, D. (2022). Hallmarks of Cancer: New Dimensions. *Cancer Discovery*, 12(1), 31–46. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-21-1059>

Highley, M. S., Landuyt, B., Prenen, H., Harper, P. G., & Bruijn, E. A. D. (2022). The Nitrogen Mustards. *Pharmacological Reviews*, 74(3), 552–599. <https://doi.org/10.1124/pharmrev.120.000121>

Huskey, A. L. W., Goebel, K., Lloveras-Fuentes, C., McNeely, I., & Merner, N. D. (2020). Whole genome sequencing for the investigation of canine mammary tumor inheritance—An initial assessment of high-risk breast cancer genes reveal BRCA2 and STK11 variants potentially associated with risk in purebred dogs. *Canine Medicine and Genetics*, 7(1), 8. <https://doi.org/10.1186/s40575-020-00084-w>

Jan, N., Sofi, S., Qayoom, H., Shabir, A., Haq, B. U., Macha, M. A., Almilaibary, A., & Mir, M. A. (2024). Metronomic chemotherapy and drug repurposing: A paradigm shift in oncology. *Helijon*, 10(3), e24670. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e24670>

Kaszak, I., Witkowska-Piłaszewicz, O., Domrazek, K., & Jurka, P. (2022). The Novel Diagnostic Techniques and Biomarkers of Canine Mammary Tumors. *Veterinary Sciences*, 9(10), Article 10. <https://doi.org/10.3390/vetsci9100526>

Ke, C.-H., Lin, C.-N., & Lin, C.-S. (2024). Hormone, Targeted, and Combinational Therapies for Breast Cancers: From Humans to Dogs. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(2), Article 2. <https://doi.org/10.3390/ijms25020732>

Kim, J. H., Hur, J. H., Lee, S. M., Im, K. S., Kim, N. H., & Sur, J. H. (2012). Correlation of Foxp3 positive regulatory T cells with prognostic factors in canine mammary carcinomas. *The Veterinary Journal*, 193(1), 222–227. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2011.10.022>

Lana, S., U'ren, L., Plaza, S., Elmslie, R., Gustafson, D., Morley, P., & Dow, S. (2007). Continuous low-dose oral chemotherapy for adjuvant therapy of splenic hemangiosarcoma in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 21(4), 764–769. [https://doi.org/10.1892/0891-6640\(2007\)21\[764:clocfa\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1892/0891-6640(2007)21[764:clocfa]2.0.co;2)

Leach, T. N., Childress, M. O., Greene, S. N., Mohamed, A. S., Moore, G. E., Schrempp, D. R., Lahrman, S. R., & Knapp, D. W. (2012). Prospective trial of metronomic chlorambucil chemotherapy in dogs with naturally occurring cancer. *Veterinary and Comparative Oncology*, 10(2), 102–112. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5829.2011.00280.x>

LeBlanc, A. K., Atherton, M., Bentley, R. T., Boudreau, C. E., Burton, J. H., Curran, K. M., Dow, S., Giuffrida, M. A., Kellihan, H. B., Mason, N. J., Oblak, M., Selmic, L. E., Selting, K. A., Singh, A., Tjostheim, S., Vail, D. M., Weishaar, K. M., Berger, E. P., Rossmeisl, J. H., & Mazcko, C. (2021). Veterinary Cooperative Oncology Group—Common Terminology Criteria for Adverse Events (VCOG-CTCAE v2) following investigational therapy in dogs and cats. *Veterinary and Comparative Oncology*, 19(2), 311–352. <https://doi.org/10.1111/vco.12677>

Lim, H.-Y., Im, K.-S., Kim, N.-H., Kim, H.-W., Shin, J.-I., Yhee, J.-Y., & Sur, J.-H. (2015). Effects of Obesity and Obesity-Related Molecules on Canine Mammary Gland Tumors. <https://doi.org/10.1177/0300985815579994>

Liu, Z.-L., Chen, H.-H., Zheng, L.-L., Sun, L.-P., & Shi, L. (2023). Angiogenic signaling pathways and anti-angiogenic therapy for cancer. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 8(1), 1–39. <https://doi.org/10.1038/s41392-023-01460-1>

Maiti, R. (2014). Metronomic chemotherapy. *Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics*, 5(3), 186–192. <https://doi.org/10.4103/0976-500X.136098>

Martínez-Lostao, L., Anel, A., & Pardo, J. (2015). How Do Cytotoxic Lymphocytes Kill Cancer Cells? *Clinical Cancer Research*, 21(22), 5047–5056. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-15-0685>

Martorana, F., Scandurra, G., Valerio, M. R., Cufari, S., Vigneri, P., Sanò, M. V., Scibilia, G., Scollo, P., & Gebbia, V. (2024). A review and metanalysis of metronomic oral single-agent cyclophosphamide for treating advanced ovarian carcinoma in the era of precision medicine. *Journal of Oncology Pharmacy Practice*, 30(1), 173–181. <https://doi.org/10.1177/10781552231216689>

Milevoj, N., Nemec, A., & Tozon, N. (2022). Metronomic Chemotherapy for Palliative Treatment of Malignant Oral Tumors in Dogs. *Frontiers in Veterinary Science*, 9. <https://doi.org/10.3389/fvets.2022.856399>

Misdorp, W. (2002). Tumors of the Mammary Gland. En D. J. Meuten (Ed.), *Tumors in Domestic Animals* (1a ed., pp. 575–606). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9780470376928.ch12>

Nava-Villalba, M., & Aceves, C. (2014). 6-iodolactone, key mediator of antitumoral properties of iodine. *Prostaglandins & Other Lipid Mediators*, 112, 27–33. <https://doi.org/10.1016/j.prostaglandins.2014.07.001>

Nosalova, N., Huniadi, M., Horňáková, L., Valenčáková, A., Horňák, S., Nagoos, K., Vozar, J., & Cizkova, D. (2024). Canine Mammary Tumors: Classification, Biomarkers, Traditional and Personalized Therapies. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(5), Article 5. <https://doi.org/10.3390/ijms25052891>

Nuñez-Anita, R. E., Arroyo-Helguera, O., Cajero-Juárez, M., López-Bojorquez, L., & Aceves, C. (2009). A complex between 6-iodolactone and the peroxisome proliferator-activated receptor type gamma may mediate the antineoplastic effect of iodine in mammary cancer. *Prostaglandins & Other Lipid Mediators*, 89(1), 34–42. <https://doi.org/10.1016/j.prostaglandins.2009.04.001>

Pastor, N., Caballé, N. C., Santella, M., Ezquerra, L. J., Tarazona, R., Duran, E., Pastor, N., Caballé, N. C., Santella, M., Ezquerra, L. J., Tarazona, R., & Duran, E. (2018). Epidemiological study of canine mammary tumors: Age, breed, size and malignancy. *Austral journal of veterinary sciences*, 50(3), 143–147. <https://doi.org/10.4067/S0719-81322018000300143>

Penel, N., Adenis, A., & Bocci, G. (2012). Cyclophosphamide-based metronomic chemotherapy: After 10 years of experience, where do we stand and where are we going? *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 82(1), 40–50. <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2011.04.009>

Petrucci, G. N., Magalhães, T. R., Dias, M., & Queiroga, F. L. (2024). Metronomic chemotherapy: Bridging theory to clinical application in canine and feline oncology. *Frontiers in Veterinary Science*, 11. <https://doi.org/10.3389/fvets.2024.1397376>

Pinello, K., Amorim, I., Pires, I., Canadas-Sousa, A., Catarino, J., Faísca, P., Branco, S., Peleteiro, M. C., Silva, D., Severo, M., & Niza-Ribeiro, J. (2022). Vet-OncoNet: Malignancy Analysis of Neoplasms in Dogs and Cats. *Veterinary Sciences*, 9(10), Article 10. <https://doi.org/10.3390/vetsci9100535>

Rueda, J. R., Porto, C. D., Franco, R. P., da Costa, I. B., Bueno, L. M. C., Giro, R. J. S., Manhoso, F. F. R., Bueno, P. C. dos S., & Repetti, C. S. F. (2024). Mammary neoplasms in female dogs: Clinical, diagnostic and therapeutic

aspects. *Veterinární Medicína*, 69(4), 99–114. <https://doi.org/10.17221/4/2024-VETMED>

Sadhasivan, S. B. M., Shafiuzaama, M., Shammi, M., Rao, G. V. S., Souza, N. J. D., Senthilnayagam, H., George, R. S., & Prabhakar, P. M. (2017). Studies on reconstruction of large skin defects following mammary tumor excision in dogs. *Veterinary World*, 10(12), 1521–1528. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2017.1521-1528>

Sai, T. R., Kumar, V. A., Kumar, K. S., & Kumar, B. A. (2024). *Diagnosis of canine mammary tumours*.

Salas-Araujo, Y. J., Aburto, E., Alonso, R., Márquez-Alvarado, A. A., Corona-Monjaras, H., & Romero-Romero, L. (2016). Asociación histológica con factores potenciales de riesgo y tiempo de sobrevida en el tumor mamario canino. *Veterinaria México OA*, 3(1), Article 1. <https://doi.org/10.21753/vmoa.3.1.359>

Sangha, S., Singh, A., Sood, N. K., & Gupta, K. (2011). *Specificity and Sensitivity of Cytological Techniques for Rapid Diagnosis of Neoplastic and Non-neoplastic Lesions of Canine Mammary Gland*.

Santos, T. R., Castro, J. R., Andrade, J. C., Silva, A. C. R., Silva, G. M. F., Ferreira, F. A., Headley, S. A., & Saut, J. P. E. (2020). Risk factors associated with mammary tumors in female dogs. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 40, 466–473. <https://doi.org/10.1590/1678-5150-PVB-6360>

Schneider, R., Dorn, C. R., & Taylor, D. O. N. (1969). Factors Influencing Canine Mammary Cancer Development and Postsurgical Survival2. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, 43(6), 1249–1261. <https://doi.org/10.1093/jnci/43.6.1249>

Sleeckx, N., de Rooster, H., Veldhuis Kroeze, E., Van Ginneken, C., & Van Brantegem, L. (2011). Canine Mammary Tumours, an Overview. *Reproduction in Domestic Animals*, 46(6), 1112–1131. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2011.01816.x>

Sontas, B., Yüzbaşıoğlu Öztürk, G., Toydemir, T., Arun, S., & Ekici, H. (2012). Fine-Needle Aspiration Biopsy of Canine Mammary Gland Tumours: A Comparison Between Cytology and Histopathology. *Reproduction in Domestic Animals*, 47(1), 125–130. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2011.01810.x>

Sorenmo, K. U., Rasotto, R., Zappulli, V., & Goldschmidt, M. H. (2011). Development, Anatomy, Histology, Lymphatic Drainage, Clinical Features, and Cell Differentiation Markers of Canine Mammary Gland Neoplasms. *Veterinary Pathology*, 48(1), 85–97. <https://doi.org/10.1177/0300985810389480>

Sorenmo, K. U., Worley, D. R., & Goldschmidt, M. H. (2013). 27—Tumors of the Mammary Gland. En S. J. Withrow, D. M. Vail, & R. L. Page (Eds.), *Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology (Fifth Edition)* (pp. 538–556). W.B. Saunders. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4377-2362-5.00027-X>

Sorenmo, K. U., Worley, D. R., & Zappulli, V. (2019). Tumors of the Mammary Gland. En *Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology* (pp. 604–625). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-59496-7.00028-1>

Spoerri, M., Guscetti, F., Hartnack, S., Boos, A., Oei, C., Balogh, O., Nowaczyk, R. M., Michel, E., Reichler, I. M., & Kowalewski, M. P. (2015). Endocrine control of canine mammary neoplasms: Serum reproductive hormone levels and tissue expression of steroid hormone, prolactin and growth hormone receptors. *BMC Veterinary Research*, 11(1), 235. <https://doi.org/10.1186/s12917-015-0546-y>

Tavasoly, A., Golshahi, H., Rezaie, A., & Farhadi, M. (2013). Classification and grading of canine malignant mammary tumors. *Veterinary Research Forum : An International Quarterly Journal*, 4(1), 25–30.

Valdivia, G., Alonso-Diez, Á., Pérez-Alenza, D., & Peña, L. (2021). From Conventional to Precision Therapy in Canine Mammary Cancer: A Comprehensive Review. *Frontiers in Veterinary Science*, 8. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.623800>

Vazquez, E., Lipovka, Y., Cervantes-Arias, A., Garibay-Escobar, A., Haby, M. M., Queiroga, F. L., & Velazquez, C. (2023). Canine Mammary Cancer: State of the Art and Future Perspectives. *Animals : An Open Access Journal from MDPI*, 13(19), 3147. <https://doi.org/10.3390/ani13193147>

Veal, G. J., Cole, M., Chinnaswamy, G., Sludden, J., Jamieson, D., Errington, J., Malik, G., Hill, C. R., Chamberlain, T., & Boddy, A. V. (2016). Cyclophosphamide pharmacokinetics and pharmacogenetics in children with B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *European Journal of Cancer*, 55, 56–64. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2015.12.007>

Zambrano-Estrada, X., Landaverde-Quiroz, B., Dueñas-Bocanegra, A. A., De Paz-Campos, M. A., Hernández-Alberto, G., Solorio-Perusquia, B., Trejo-Mandujano, M., Pérez-Guerrero, L., Delgado-González, E., Anguiano, B., & Aceves, C. (2018). Molecular iodine/doxorubicin neoadjuvant treatment impair invasive capacity and attenuate side effect in canine mammary cancer. *BMC Veterinary Research*, 14(1), 87. <https://doi.org/10.1186/s12917-018-1411-6>

Zatloukal, J., Lorenzová, J., Tichý, F., Nečas, A., Kecová, H., & Kohout, P. (2005). Breed and Age as Risk Factors for Canine Mammary Tumours. *Acta Veterinaria Brno*, 74(1), 103–109. <https://doi.org/10.2754/avb200574010103>

Zheng, H.-H., Du, C.-T., Yu, C., Zhang, Y.-Z., Huang, R.-L., Tang, X.-Y., & Xie, G.-H. (2022). Epidemiological Investigation of Canine Mammary Tumors in Mainland China Between 2017 and 2021. *Frontiers in Veterinary Science*, 9. <https://doi.org/10.3389/fvets.2022.843390>

XII. Anexos.

- Anexo 1: Criterios de terminología común para efectos adversos
- Anexo 2: Cartel de difusión

Efectos adversos y sus grados por parámetros por VCOG-CTCAE v2
(LeBlanc et al., 2021).

Efectos adversos	Grado 1 Leve	Grado 2 Moderado	Grado 3 Severo	Grado 4 Grave (mortal)
Vómito	≤ 24 horas	Por más de 24 horas	Hospitalización	Deshidratación grave
Nausea	Salivación ligera	Salivación moderada		
Diarrea	≤ 24 horas	Por más de 24 horas	Hospitalización	Deshidratación grave
Hiporexia	↓ apetito por ≤ 1 semana	↓ apetito por 1-2 semanas	↓ apetito por 2 semanas	
Letargia	Casi desapercibido	Cierta dificultad	Restricción de movimiento	Movimiento es nulo
Alopecia	Localizada	Generalizado	Generalizado, escaso y permanente	

Cistitis	Asintomático	Sintomático	Interrumpir el medicamento atribuido	Hemorragia
-----------------	--------------	-------------	--------------------------------------	------------

Cartel de difusión

**A los propietarios de mascotas con
CÁNCER MAMARIO CANINO**

Se convoca a que sus mascotas participen en el protocolo de investigación que estará abierto hasta agosto 2024 :

INFORMES:
Tel: 442 440 9117 e-mail: reto.veterinaria@uag.mx

INVESTIGADORES RESPONSABLES DEL PROYECTO:
Dra. Carmen Adelaida Velasco (UAG) / consejocurso.mexico.org.mx
Dra. Xochitl Zambrano Sánchez (colaboradora) / xochitl@uag.mx

RETO que atender

CÁNCER MAMARIO CANINO,
Incidencia alta (dos veces más que en mujeres)

DESAFIO:
La recurrencia y metástasis

TRATAMIENTO:

QUIMIOTERAPIA METRONÓMICA, con efecto antineoplásico y disminución de signos adversos a diferencia de quimioterapia con la dosis máxima tolerada.

YODO MOLECULAR
Producto natural con potentes obtendidas por la UNAM.
Ha mostrado en otros modelos biológicos, y en mujeres con cáncer mamario, propiedades terapéuticas incluidas la actividad antioxidante, antiinflamatoria y anticancerígena con efectos secundarios reducidos al ser administrado en conjunto con la quimioterapia estándar.

Diagnóstico citológico: \$500 PESOS
En caso de ser candidata, **TRATAMIENTO GRATUITO** que incluye:

Diagnóstico (biopsia)	Atención telefónica especializada con el periodo de investigación.
Analisis clínicos	ultrasonido abdominal
- Biometría hemática	Rays X
- Bioquímica sanguínea	
- Urianalisis	
Evaluaciones clínicas periódicas	
Electrocardiograma	

SE EXCLUEN:

- Hembra con problemas tiroideos, hepáticos, renales, cardíacos o que comprometan la vida de la paciente con saido protocolo
- Hembra con tratamiento previo contra el cáncer.

SE ELIMINAN:

- Cuando no existe apego estricto al tratamiento.
- Cuando fallecen una segunda vez.
- Desarrollen intolerancia al complemento natural de yodo molecular.
- Que requieran cambio de tratamiento.

Investigación aprobada por comité de biología de la UNAM y UAG.

Anexo 2. Cartel de invitación al protocolo