

بررسی بالینی و هیستوپاتولوژیک تومورهای پستان در سگ های ارجاعی به درمانگاه تخصصی

دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد (در بازه‌ی زمانی 90-87)

دکتر نسرين گلشن^{1*}، دکتر حسين كاظمي مهرجردی²، دکتر احمدرضا موثقی³، دکتر علی میرشاهی⁴

1- دستیار تخصصی کلینیکال پاتولوژی دامپزشکی دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد

2- استادیار بخش علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد

3-، استاد بخش پاتوبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد

4-، استادیار بخش علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد

(* ایمیل مسئول مقاله: golshannasrin@yahoo.com؛ تلفن: 09155127881)

چکیده: مقدمه- تومورهای پستانی در ماده سگ‌ها بسیار شایعند. درک اساس زیست‌شناسی سرطان در راستای بهبود توانایی ما در ابداع روش‌های درمانی موثر، الزامی می‌باشد. هدف- در این بررسی رفتار پاتولوژیک و پیش‌آگهی تومورهای پستانی سگ‌ها به تفکیک شاخص‌های تشخیصی بالینی از قبیل سن، جنس، نژاد در تاریخچه، موقعیت پستان درگیر، اندازه‌ی تومور، وجود زخم و چسبندگی در معاینه بالینی، میزان زنده‌مانی و عود مجدد بررسی شده است. روش- این بررسی در فاصله‌ی سال‌های 87 تا 90 در شهر مشهد انجام شد. پس از اخذ تاریخچه‌ی حیوانات، ارزیابی بالینی و پرتونگاری انجام گرفت و از حیوان نمونه‌ی خون اخذ شد. سپس برداشت تومور به روش جراحی انجام شد. نمونه‌های بافتی تومورها به وسیله‌ی میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار گرفتند. وضعیت سلامت حیوانات عمل شده تا 5 ماه بعد از عمل مورد ارزیابی مجدد قرار گرفت. نتیجه- از تعداد 30 توده که از منظر بررسی بالینی به عنوان تومور تشخیص داده شده‌اند، 27 توده از نظر آسیب‌شناسی نیز به عنوان تومور تایید شدند. بیش از 95 درصد تومورها بدخیم بودند. مجموعاً 25 توده‌ی توموری بدخیم در سگ‌های با طیف سنی 3 تا 18 سال مشاهده شد. رخداد عمده‌ی موارد مربوط به سنین بالای 6 سال بود. نژادهای خالص در این بررسی بیش از نژادهای مخلوط مستعد ابتلا به تومور پستانی بدخیم بوده و کلیه موارد خوش‌خیم مربوط به نژادهای خالص بود. 13 توده‌ی بدخیم از پستان‌های خلفی، 7 توده‌ی بدخیم از پستان‌های قدامی و هر دو توده‌ی خوش‌خیم از پستان‌های خلفی خارج گردید. 16 توده‌ی بدخیم مربوط به سمت راست و 9 توده‌ی بدخیم مربوط به پستان‌های سمت چپ بدن بیمار بود. در تفکیک بزرگی و کوچکی توده‌های بدخیم، 10 مورد کوچک (کمتر از 3 سانتی‌متر) و مابقی (15 مورد) بالای 3 سانتی‌متر ارزیابی شد که در پی‌گیری پنج ماهه پس از درمان جراحی، 53.3٪ از توده‌های بزرگ و 75 درصد از توده‌های کوچک زنده بودند و 5 سگ (10 توده) تلف یا مرگ با ترحم شدند. توده‌های توموری

خوش‌خیم هر دو کوچک و در پی‌گیری زنده بودند. از میان سگ‌های مورد مطالعه، رخداد جدید تومور پستانی در دو سگ گزارش و تایید گردید.

مقدمه و هدف: نئوپلازی مشکل شایعی در دامپزشکی حیوانات کوچک می‌باشد که یکی از هر 10 سگ در طول زندگی خود مبتلا می‌کند. سرطان در حیوانات دست‌آموز یکی از دلایل برجسته مرگ و میر است. از طرف دیگر شیوع سرطان نیز به دلایل مختلفی مثل بالا رفتن سن در سگ‌ها در حال افزایش است. دومین محل شایع برای ایجاد سرطان در سگ‌ها پس از پوست و بافت‌های نرم، غدد پستانی است. بیش‌تر این تومورها در سنین بالای 10 سال رخ می‌دهند. تقاضا برای درمان حیوانات خانگی مبتلا به سرطان افزایش یافته است. مدیریت سرطان‌های حیوانات با هدف افزایش عمر باقی‌مانده حیوان است اما در کنار آن به دنبال کیفیت‌بخشی مناسب به زندگی وی نیز می‌باشد و تمامی روش‌های درمانی با این هدف بنا نهاده شده‌اند. جراحی بهترین روش درمانی تمامی تومورهای پستانی است. تقریباً 50٪ تومورهای پستانی آدنوم‌های خوش‌خیم هستند و با جراحی مناسب قابل درمان می‌باشند. با این حال ممکن است تومورهای جدیدی ایجاد شوند و برخی از آن‌ها ممکن است بدخیم باشند. در مورد تومورهای بدخیم پیش‌آگهی متغیر بوده و بستگی به فاکتورهای مختلف مثل نوع بافت‌شناسی تومور و مرحله پیش‌رفت (درجه تمایز) آن دارد. پیش‌گیری بهتر از درمان است. وقوع بسیاری از سرطان‌ها در طب دامپزشکی قابل پیش‌گیری است. علت اصلی ایجادکننده تومور پستانی مشخص نیست، اما بسیاری از آن‌ها وابسته به هورمون بوده و با عقیم کردن حیوان قبل از یک سالگی می‌توان از وقوع اغلب آن‌ها جلوگیری کرد.

نئوپلاسم‌ها با توجه به خصوصیات مربوط به رشد و رفتار خود به صورت خوش‌خیم و بدخیم دسته‌بندی می‌شوند. نئوپلاسم‌های بدخیم خصوصیات تهاجم ناحیه‌ای و رشد تخریب‌کننده و توانایی متاستاز به سایر نقاط در بدن دارند. این خصوصیات در صورت عدم درمان به‌موقع منجر به مرگ می‌شوند. تومورهای خوش‌خیم به جای تهاجم به صورت گسترش در محل رشد می‌کنند و متاستاز ندارند. پروسه‌ی بالینی آن‌ها بیش‌تر قابل پیش‌بینی است و معمولاً زندگی فرد بیمار را به خطر نمی‌اندازد. تومورها ممکن است به علت اثر مستقیم رشد تومور روی ارگان‌ها و سیستم‌های مجاور، عوارض مربوط به خون و عوارض متابولیک یا غدد درون‌ریز (سندرم‌های پارائوپلاستیک) موجب علایم بالینی شوند.

هدف از انجام این مطالعه بررسی رفتار پاتولوژیک و پیش‌آگهی تومورهای پستانی سگ‌ها به تفکیک شاخص‌های تشخیصی بالینی از قبیل سن، جنس، نژاد در تاریخچه، موقعیت پستان درگیر، اندازه‌ی تومور، وجود زخم و چسبندگی در معاینه بالینی، میزان زنده‌مانی و عود مجدد تومورهای پستانی در سگ‌های ارجاعی به دانشکده‌ی دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد در بازه‌ی زمانی 4 ساله می‌باشد.

مواد و روش کار: اخذ تاریخچه - در حیواناتی که از نظر ظاهری مبتلا هستند ابتدا تاریخچه‌ی کامل شامل سن و جنسیت اخذ شد. ارزیابی‌های بالینی - بررسی تعداد کارتیبه‌های مبتلا، نوع کارتیبه یا کارتیبه‌های مبتلا و

اندازه‌ی تومور انجام گرفت. توده‌ی پستانی به‌منظور بررسی اندازه، میزان قابلیت تحرک آن (متصل و یا آزاد) نسبت به پوست یا عضله و فاسیای زیرین و هر گونه زخم و ادم مورد ملامسه قرار گرفت. در مواردی که تومور چند توده‌ای بود، هر توده به‌عنوان یک تومور مجزا تلقی گردید. به‌منظور تمایز هیپرتروفی و ورم پستان بایستی دقت لازم به‌عمل می‌آمد. برداشت تومور- ناحیه‌ی عمل به‌صورت یک برش قاچ خربزه‌ای دور پستان مبتلا طوری که در حدود یک سانتی‌متر از بافت سالم نیز برداشته شود، زده شد. بافت‌های زیرجلدی بریده شد تا به فاسیای دیواره خارجی شکم برسد. خون‌ریزی توسط الکتروکواگولاسیون، هموستات و یا لیگاتور کنترل شد. با توجه به وضعیت درگیری حیوان از تکنیک‌های جراحی مختلف (مثل لمپکتومی، ماستکتومی ساده، ماستکتومی ناحیه‌ای، ماستکتومی یک‌طرفه و یا ماستکتومی دوطرفه) استفاده شد. ارسال نمونه‌ی هیستوپاتولوژی و ارزیابی آن- پس از برداشت بافت توموری، اندازه‌گیری آن‌ها به‌عمل آمده و بر این مبنای دو دسته بزرگ (بیش از 3 سانتی‌متر) و کوچک (کم‌تر از 3 سانتی‌متر) تقسیم بندی و نمونه‌ها در فرمالین 30 درصد به آزمایشگاه جهت ارزیابی ارسال شد. پس از انجام مراحل آماده‌سازی بافت‌ها به وسیله‌ی میکروتوم، برش‌های بافتی به ضخامت 5 تا 6 میکرون تهیه و به روش رنگ‌آمیزی عمومی همتاکسیلین و ائوزین رنگ‌آمیزی شدند. در نهایت نمونه‌ها به وسیله‌ی میکروسکوپ نوری و با بزرگنمایی 20X و 40X مورد مطالعه قرار گرفتند؛ و سایر معیارها برای تشخیص نوع تومورها، مورد ارزیابی قرار گرفتند. ارزیابی‌های بعد از عمل- وضعیت سلامت حیوانات عمل شده تا 5 ماه بعد از عمل مورد ارزیابی مجدد قرار گرفت. در تومورهای بدخیم باید هر 3 الی 4 ماه وضعیت حیوان از نظر رخداد مجدد تومور و یا متاستاز تومور مورد بررسی و ارزیابی قرار گیرد.

نتیجه: در طی این تحقیق 15 سگ مبتلا به تومور مراجعه داشته‌اند. از تعداد 30 توده که از منظر بررسی بالینی به‌عنوان تومور تشخیص داده شده‌اند، 27 توده از نظر آسیب‌شناسی نیز به‌عنوان تومور تایید شدند. در طرح حاضر از کل موارد ارجاعی (30 توده)، 4 توده متعلق به سگ نر و از میان توده‌های توموری حقیقی (27 مورد) 3 عدد متعلق به سگ‌های نر بود. 92.6٪ تومورها بدخیم و مابقی خوش‌خیم بودند. عمده‌ی توده‌ها (21 توده از 12 سگ) در سگ‌های با طیف سنی 6 تا 18 سال مشاهده شد. هیچ‌یک از بیماران ارجاعی مورد بررسی در این مطالعه عقیم نبودند. در مجموع، 6 سگ ماده (12 تومور) در طول عمر خود هرگز جفت‌گیری نکرده بودند؛ 7 سگ ماده (11 تومور) جفت‌گیری و زایمان داشته که از میان آن‌ها یکی سزارین همراه طبیعی و بقیه زایمان طبیعی داشتند. 1 ماده سگ (1 تومور) علی‌رغم سیکل‌های سالم و جفت‌گیری دارای سابقه عدم باروری بود. اکثر توده‌های توموری مربوط به نژادهای خالص ژرمن‌شفرد، تریر، پودل، اشپیتز، شی‌هواهوا، داشهوند، پاپیلون و پکنیز (24 توده از 13 سگ) و تعداد محدود (5 توده از 2 سگ) مربوط به نژادهای مخلوط بود. 13 توده‌ی بدخیم از پستان‌های خلفی، 7 توده‌ی بدخیم از پستان‌های قدامی و هر دو توده‌ی خوش‌خیم از پستان‌های خلفی خارج گردید. 16 توده‌ی بدخیم مربوط به سمت راست و 9 توده‌ی بدخیم

مربوط به پستان‌های سمت چپ بدن بیمار بود. در این طرح 3 توده که 2 تا بزرگ و یکی کوچک بود چسبندگی داشتند. در تفکیک بزرگی و کوچکی توده‌های بدخیم، 10 مورد کوچک (کمتر از 3 سانتی‌متر) و مابقی (15 مورد) بالای 3 سانتی‌متر ارزیابی شد که در پی‌گیری پنج ماهه پس از درمان جراحی، 53.3٪ از توده‌های بزرگ و 75 درصد از توده‌های کوچک زنده بودند و 5 سگ (10 توده) تلف یا مرگ با ترحم شدند. توده‌های توموری خوش‌خیم هر دو کوچک و در پی‌گیری زنده بودند. از میان سگ‌های مورد مطالعه، رخداد جدید تومور پستانی در دو سگ گزارش و تایید گردید.

بحث و پیشنهاد: هدف از انجام این مطالعه بررسی شیوع تومورهای پستانی در سگ‌های ارجاعی به دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد در بازه‌ی زمانی 4 ساله می‌باشد. نتایج این مطالعه، چالش‌ها و راهکارهای احتمالی در خصوص مطالعه‌ی تومورهای پستانی سگ‌سانان را پررنگ‌تر می‌کند.

اغلب تومورهای پستانی در ماده‌های غیرعقیم میان‌سال رخ می‌دهد. علی‌رغم آن‌که تومورهای پستانی در سگ‌های نر نادر است اما امکان وقوع در آن‌ها وجود دارد. طبق بررسی‌ها، احتمال ایجاد تومورهای غدد پستانی در سگ‌های ماده 62 بار بیش از نرها است و کمتر از 1٪ کل تومورهای پستانی در نرها روی می‌دهد. تعداد بیماران ماده (14) نسبت به نر (1) 14 بار بیش‌تر و میزان نرهای بیمار 6.6٪ کل جمعیت بود. نسبت اخیر نشان‌دهنده میزان بالای رخداد این بیماری در سگ‌های نر جمعیت مورد مطالعه می‌باشد. در طرح حاضر سگ نر مورد مطالعه 14 ساله و غیرعقیم بوده است. 1 ماده سگ (1 تومور) علی‌رغم سیکل‌های سالم و جفت‌گیری دارای سابقه عدم باروری بود. البته بر طبق سایر مطالعات تفاوتی از لحاظ نظم یا بی‌نظمی سیکل استروس در بین سگ‌های سالم و دارای تومور وجود ندارد. هورمون‌ها خود عاملی مهم در ایجاد تومورهای پستانی هستند و مشخص شده است که بیان گیرنده‌های استروژن در اکثر تومورها بسیار قوی بوده است. از طرفی دیگر گفته می‌شود که رخداد تومورهای بدخیم در نرها کم‌تر از ماده‌ها است که با نتایج طرح حاضر (رخداد موارد بدخیم در ماده‌ها 90 درصد و در نرها 30 درصد) سازگار است.

در مطالعه‌ی حاضر توده‌های توموری در سگ‌های با طیف سنی 3 تا 18 سال مشاهده شد. عمده توده‌ها مربوط به سن بالای 6 سال (21 توده از 12 سگ) بود و در این میان بیش‌تر (11 توده از 6 سگ) به سن بالای 10 سال مربوط است. بر اساس نتایج مطالعات قبلی نیز وقوع تومورهای پستانی به طور قابل ملاحظه‌ای بعد از شش سالگی افزایش می‌یابد و در سگ‌ها بیش‌تر در سنین بالای 10 سالگی رخ می‌دهد.

تمامی نژادها ممکن است به این بیماری مبتلا شوند. بیش‌ترین رخداد در نژادهای پودل، بوستون‌تریر، فاکس‌تریر، آیردال‌تریر، داش‌هوند، گریت‌پیرنیز، ساموئیدس، کیشوندن و نژادهای ورزشی دیده می‌شود. از طرفی مطالعات ثابت کرده‌اند که بدون توجه به جنس بیماری اکثراً در نژادهای خالص بروز می‌یابد. در مطالعه‌ی حاضر نژادهای خالص در این بررسی بیش از نژادهای مخلوط مستعد ابتلا به تومور پستانی بدخیم

بوده و کلیه موارد خوش خیم مربوط به نژادهای خالص بود، به علاوه که اکثریت توده‌ها مربوط به دو نژاد تریبر و ژرمن شفرد بوده است.

از مجموع توده‌های توموری 12 مورد کوچک (کم‌تر از 3 سانتی‌متر) و 15 بزرگ (بالای 3 سانتی‌متر) ارزیابی شد. اندازه یک تومور با تعداد تقسیمات سلول‌های توموری وابستگی دارد و در نتیجه تومور بزرگ‌تر، شانس بیش‌تری برای پیش‌رفت به یک رفتار بدخیم‌تر دارد. در این مطالعه تمامی تومورهای بزرگ از نوع بدخیم و از میان تومورهای کوچک دو توده بدخیم و بقیه خوش‌خیم بودند. در سگ‌ها تومورهای کم‌تر از 3 سانتی‌متر پیش‌آگهی بهتری نسبت به تومورهای بزرگ‌تر از آن دارند. تومورهای کوچک معمولاً به خوبی تنها با جراحی بهبود می‌یابند، اما سگ‌های دارای تومور بزرگ در خطر مرگ ناشی از بیماری هستند. در این طرح در طی 5 ماه پی‌گیری 8 مورد از توده‌های بزرگ (53.3٪) و 9 مورد از توده‌های کوچک (7.5٪) زنده و 7 مورد از توده‌های بزرگ و 3 مورد از توده‌های کوچک به علت تومور تلف یا مرگ با ترحم شدند؛ که با سایر مطالعات سازگار است. پیش‌آگهی تومورهای خوش‌خیم در صورت انجام جراحی خوب است؛ چنانچه از تومورهای خوش‌خیم این طرح در 5 ماه همگی زنده بودند. در مورد تومورهای بدخیم پیش‌آگهی متغیر بوده و بستگی به فاکتورهای مختلف مثل نوع تومور و مرحله‌ی پیش‌رفت آن دارد. علی‌رغم نتایج حاصله در این مطالعات روی تومور پستانی سگ‌ها مالکین حیوانات خانگی گزینه‌ی انتخاب مرگ با ترحم را دارند. در این مطالعه 2 سگ (2 تومور بزرگ و بدخیم) که هر دو ژرمن بودند و 13.3٪ جمعیت را می‌سازند به درخواست مالک مرگ با ترحم شدند.

در این طرح 13 توده توموری مربوط به پستان‌های خلفی (4 و 5) و 8 توده قدامی (1 و 2) بوده است. در مطالعات دیگر نیز مشخص شده که غدد پستانی خلفی نسبت به غدد قدامی بیش‌تر به این نوع تومور مبتلا می‌شوند.

بسیاری از تومورهای پستانی در طی معاینات فیزیکی روتین مشخص می‌شوند. هیپرتروفی پستان، آماس و التهاب پستان، گرانولوما، تومورهای پوستی و یا اجسام خارجی باید از تومورهای پستانی تفریق داده شوند. هیپرتروفی متعاقب افزایش پروژسترون خون رخ داده و تفریق هیپرتروفی بر اساس تاریخچه و یافته‌های سلول‌شناسی صورت می‌گیرد. آماس و التهاب پستان بعد از استروس، زایمان و یا آبستنی کاذب رخ می‌دهد و تورم آن نسبت به کارسینوم التهابی محدودتر است. بافت نئوپلاستیک دارای خصوصیات ویژه‌ای است که آن را از شرایطی مثل هیپرپلازی یا التهاب تمایز می‌دهند. آماس و التهاب پستان بعد از استروس، زایمان و یا آبستنی کاذب رخ می‌دهد.

در مطالعه حاضر 7.4 درصد تومورها خوش‌خیم و 92.6 درصد بدخیم بودند. از طرفی در سگ‌ها اکثر مطالعات هیستوپاتولوژی نشان داده‌اند که حدود 50 درصد تومورهای ثبت شده خوش‌خیم هستند، اما باید توجه کرد که ارائه‌ی نمونه‌های بدخیم برای آنالیز بافتی نسبت به موارد خوش‌خیم، توسط افراد ترجیح

بیشتری دارد. تومورهای مخلوط خوشخیم شایعترین انواع تومورهای خوشخیم در سگها هستند. کلیه تومورهای خوشخیم مطالعه حاضر نیز از نوع خوشخیم مخلوط بودند که این مطلب را تایید می‌کند. قابلیت حرکت تومور نسبت به بافت‌های اطرافی و تثبیت معمولاً نفوذ به ساختارهای مجاور را مشخص می‌کند. آنها ممکن است به پوست یا عضله زیرین متصل و یا آزاد باشند. چنین ذکر شده که بیش‌تر توده‌ها در زیر پوست آزادانه حرکت می‌کنند، اما گاهی اوقات ممکن است به عضلات و فاسیا اتصال داشته باشند. در این طرح 3 توده که 2 تا بزرگ و یکی کوچک بود چسبندگی داشتند که میزان کم آنها (11.11٪ تومورها) با این مطلب هماهنگ است.

پیگیری مهم‌ترین متغیر تحقیقات پروگنوستیک است. علی‌رغم آن‌که برخی مطالعات برپایه معاینات بالینی دوره‌ای هستند، بقیه به بررسی‌های ثبت شده و تماس‌های تلفنی با مالکین بستگی دارند. باورها بر این است که این‌ها روش‌های پیگیری غیرقابل‌اعتمادی هستند؛ چراکه به‌نظر نمی‌رسد همگی حیوانات از پروسه‌های استاندارد مشابه پیروی کرده باشند.

ضعف ناشی از سرطان علت اصلی ناخوشی و مرگ‌ومیر در مبتلایان به سرطان است. در مطالعه‌ای 12٪ مرگ به علت تومور پستانی و 47٪ مرگ با ترحم به‌علت عودت یا متاستاز داشت. در طرح حاضر مجموع مرگ با ترحم 33.3٪ است. تومورهای خوشخیم تهاجم ناحیه‌ای یا متاستاز ندارند. اما یک گرایش در ماده سگ‌ها برای ایجاد تومورهای چندگانه و ایجاد تومورهای خوشخیم جدید پس از برداشت یک ندول موجود در همان غده یا غدد دیگر وجود دارد. در مطالعه حاضر در دو سگ ایجاد تومور جدید اتفاق افتاد. در یک مطالعه در یک‌چهارم سگ‌ها با تومور خوشخیم، صرف‌نظر از وضعیت باروری، در طی 2 سال پی از جراحی، تومور دیگری ایجاد شد.

مهم‌ترین اطلاعاتی که از بررسی تومورهای پستانی خارج‌شده از طریق جراحی سگ‌ها به دست می‌آید، در رابطه با پیش‌آگهی است. آگاهی درمورد لزوم مراقبت از سلامت حیوانات، در کنار پیشرفت در خدمات بالینی دامپزشکی، نیاز به اطلاع صحیحی از پیش‌آگهی در کارهای معمول دامپزشکی را افزایش می‌دهد. از طرف دیگر به علت شباهت‌های فراوانی که بین مدل‌های تومورهای انسانی و حیوانی وجود دارند، تومورهای حیوانی می‌توانند به‌عنوان مدل‌هایی برای تومورهای انسانی کاربرد داشته باشند.

فهرست منابع:

1. Uva, P., Aurisicchio, L., Watters, J., Loboda, A., Kulkarni, A., Castle, J., Palombo, F., Viti, V., Mesiti, G., Zappulli, V., Marconato, L., Abramo, F., Ciliberto, G., Lahm, A., La Monica, N. and de Rinaldis, E. (2009):

- Comparative expression pathway analysis of human and canine mammary tumors. *BMC Genomics*. 10:135.
2. Matos, A.J., Baptista, C.S., Gärtner, M.F. and Rutteman, G.R. (2012): Prognostic studies of canine and feline mammary tumours: The need for standardized procedures. *Veterinary Journal*. 193:24-31.
 3. Chang, S.C., Chang, C.C., Chang, T.J. and Wong, M.L. (2005): Prognostic factors associated with survival two years after surgery in dogs with malignant mammary tumors: 79 cases (1998-2002). *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 227:1625-1629.
 4. Goldschmidt, M., Peña, L., Rasotto, R. and Zappulli, V. (2011): Classification and grading of canine mammary tumors. *Veterinary Pathology*. 48:117-131.
 5. Webster, J.D., Dennis, M.M., Dervisis, N., Heller, J., Bacon, N.J., Bergman, P.J., Bienzle, D., Cassali, G., Castagnaro, M., Cullen, J., Esplin, D.G., Peña, L., Goldschmidt, M.H., Hahn, K.A., Henry, C.J., Hellmén, E., Kamstock, D., Kirpensteijn, J., Kitchell, B.E., Amorim, R.L., Lenz, S.D., Lipscomb, T.P., McEntee, M., McGill, L.D., McKnight C.A., McManus, P.M., Moore, A.S., Moore, P.F., Moroff, S.D., Nakayama, H., Northrup, N.C., Sarli, G., Scase, T., Sorenmo, K., Schulman, F.Y., Shoieb, A.M., Smedley, R.C., Spangler, W.L., Teske, E., Thamm, D.H., Valli, V.E., Vernau, W., von Euler, H., Withrow, S.J., Weisbrode, S.E., Yager, J. and Kiupel, M. (2011): Recommended guidelines for the conduct and evaluation of prognostic studies in veterinary oncology. *Veterinary Pathology*. 48:7-18.