



**UNIVERSIDAD DE CHILE**

**FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS  
ESCUELA DE POSGRADO Y POSTÍTULO**

**CARACTERIZACIÓN CLÍNICO-PATOLÓGICA DE  
NEOPLASIAS DE LA CAVIDAD ORAL DE  
ERIZOS DE TIERRA (*Atelerix albiventris*)**

**GABRIELA DEL AGUILA HERRERA**

**Tesis para optar al Grado de Magíster  
en Ciencias Animales y Veterinarias**

**Santiago - Chile  
2018**



**UNIVERSIDAD DE CHILE**

**FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS  
ESCUELA DE POSGRADO Y POSTÍTULO**

**CARACTERIZACIÓN CLÍNICO-PATOLÓGICA DE  
NEOPLASIAS DE LA CAVIDAD ORAL DE  
ERIZOS DE TIERRA (*Atelerix albiventris*)**

**GABRIELA DEL AGUILA HERRERA**

**Tesis para optar al Grado de Magíster  
en Ciencias Animales y Veterinarias**

**DIRECTOR DE TESIS  
Dr. Cristian Torres (Lic., PhD)  
Dr. Federico Cifuentes (Lic., PhD)**

**Santiago - Chile  
2018**

## BIOGRAFÍA

Gabriela Del Aguila Herrera nació el 26 de Noviembre de 1990 en la ciudad de Lima, Perú en donde estudió primaria y secundaria (hasta tercer año) en el Colegio Isabel Flores de Oliva. Debido a la condición de funcionario internacional (Organización Panamericana de Salud) de su padre, se traslada a Centro América y continúa sus estudios secundarios en la ciudad de San José en Costa Rica finalizando su escolaridad en el colegio "Saint Mary High School". Inicia su formación universitaria en la carrera de Medicina Veterinaria en la Universidad Nacional de Costa Rica (UNA) en donde estudia tres años. En el 2011, su familia se traslada a Chile y ella opta por un traslado internacional a la Universidad de Chile finalizando sus estudios de pregrado en la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile (FAVET). Paralelamente, opta por participar en el programa de Magíster de continuidad ofrecido por esta institución. Obtuvo la Licenciatura en Ciencias Veterinarias y Pecuarias en el año 2014 y al año siguiente fue aceptada en el programa de Magíster en Ciencias Animales y Veterinarias. En el 2016 aprobó un diploma en Medicina y Manejo de Animales Exóticos en la Universidad de Chile. Actualmente se encuentra en revisión un manuscrito denominado "*Pathological characterization of oral masses in the African pigmy hedgehog (Atelerix albiventris)*" derivado del presente proyecto de tesis.

## **DEDICATORIA**

*A mis padres, quienes estuvieron presentes constantemente en todos los altibajos de este proceso, dándome energía y fuerza para siempre seguir adelante.*

## **AGRADECIMIENTOS**

En primer lugar, agradezco a los docentes de la Universidad de Chile que permitieron que quisiera obtener cada vez mayores conocimientos en diversas áreas de la Medicina Veterinaria. Muchas veces incentivaron a que siguiera avanzando. Entre ellos se encuentran mis dos asesores de tesis, el Doctor Federico Cifuentes y el Doctor Cristian Torres, quienes a pesar de encontrarse copados de actividades, me entregaron una guía y apoyo constante para enfocarme de modo apropiado. Agradezco, por toda la paciencia de Miguel Sepúlveda en el laboratorio de Patología, ya que él estuvo siempre atento de ayudar en lo que fuera necesario y hacer muy entretenido el trabajo en el laboratorio.

Debo indicar que doy gracias a los Médicos Veterinarios de la Clínica ExzooticVet, Andrea Díaz y Francisco Matus, quienes en un inicio me brindaron el espacio para poder iniciar este proyecto de tesis. Además, ambos tuvieron un rol importante para mi crecimiento en el área de mascotas exóticas. Del mismo modo, todos los Médicos Veterinarios que estuvieron dispuestos a apoyarme, brindándome ideas o cooperando de diversas maneras.

A mis padres y hermano, ¡Gracias infinitas! Siempre tuvieron disposición para apoyarme en los momentos que necesitaba. Me entregaron innumerables herramientas que me han permitido llegar al punto donde me encuentro ahora. Palabras no son suficientes para indicarles todo mi aprecio hacia ellos, los kilómetros de distancia que nos separaron nunca fueron un límite para sentir su energía. A mis abuelos, que siempre los tendré en mi corazón y pensamientos. Finalmente, debo agradecer a mi pareja, Roberto, quien me lograba subir el ánimo y dar energía en los momentos en que me iba a dar por vencida.

## INDICE DE CONTENIDOS

<b>RESUMEN</b> .....	7
<b>SUMMARY</b> .....	8
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	9
<b>2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</b> .....	10
<b>3. HIPÓTESIS</b> .....	17
<b>4. OBJETIVOS</b> .....	17
OBJETIVO GENERAL .....	17
OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	17
<b>5. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	18
<b>6. RESULTADOS</b> .....	25
<b>7. DISCUSIÓN</b> .....	38
<b>8. CONCLUSIÓN</b> .....	46
<b>8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	47
<b>ANEXO 1</b> .....	52
<b>ANEXO 2</b> .....	54

## RESUMEN

Los erizos de tierra han adquirido un importante rol como mascotas en diversos países. Esta especie tiene predisposición a desarrollar lesiones orales, incluyendo la presencia de tumores. La mayoría de estas lesiones son neoplasias malignas con mal pronóstico; sin embargo, algunas son neoplasias benignas o lesiones no neoplásicas. Es por ello que es fundamental la evaluación completa de la cavidad oral durante el examen clínico rutinario, ya que identificar adecuadamente un tumor oral permitirá establecer un diagnóstico y pronóstico preciso. El objetivo de este estudio fue caracterizar clínica y patológicamente lesiones neoplásicas orales de erizos de tierra. Durante un año, 21 individuos fueron diagnosticados con un tumor oral, de los cuales se obtuvo muestras de tejido. 52% fueron hembras y 48% machos y el rango de edad fue 2 a 6,5 años (mediana = 4,3 años). Diecisiete (81%) casos fueron carcinoma de células escamosas (CCE) poco diferenciado (Grado 3), 2 fibromas odontogénicos periféricos (9,5%), un sarcoma indiferenciado (4,8%) y un hemangiosarcoma (4,8%). La morfología microscópica de estas neoplasias fue similar a la descrita en otras especies domésticas. Macroscópicamente, el CCE se presentó como un tumor altamente invasivo ulcerativo o nodular, ocasionando una deformación facial en todos los ejemplares. Las otras neoplasias fueron pólipos no invasivos con buen pronóstico posterior a la extirpación quirúrgica. Se detectó expresión de Ki67, VEGFR-2 y COX-2 en la mayoría de las muestras de CCE oral. En particular, sólo la expresión de VEGFR2 fue significativamente ( $p = 0,01$ ) mayor en CCE en relación con la hiperplasia gingival. En conclusión, la mayoría de los tumores de cavidad oral en erizos de tierra fueron altamente malignos y fueron diagnosticados como CCE poco diferenciado. Adicionalmente, los tumores orales pueden ser similares en su aspecto, en etapas tempranas; sin embargo, histológicamente pueden tener diagnósticos y pronósticos distintos. Entonces, ante la detección de una masa oral se debe realizar un estudio histológico junto con el examen clínico completo.

Palabras Clave: *Atelerix albiventris*, erizo de tierra, tumor oral, carcinoma de células escamosas oral

## SUMMARY

African pigmy hedgehogs have become popular pets in several countries. One of the main medical concerns in this species is their propensity to develop oral lesions, many of which are tumors. Most of these masses are malignant neoplasms with poor prognosis; however, some of them are benign neoplasms or non-neoplastic lesions. Since the examination of the oral cavity is an important part of routine veterinary check-ups, recognizing these lesions can improve diagnosis and prognosis. The purpose of this study was to establish a clinic and pathologic characterization of oral cavity neoplasms presented in hedgehogs. Tissue samples were obtained from twenty-one privately owned hedgehogs that were diagnosed with oral cavity masses during a one-year period. 52% were female and 48% male and the ages ranged from 2 to 6.5 years (median = 4,3 years). Seventeen (81%) cases were diagnosed as poorly differentiated squamous cell carcinomas (SCC), 2 peripheric odontogenic fibromas (9,5%), one undifferentiated sarcoma (4,8%) and one hemangiosarcoma (4,8%). It is important to remark that the microscopic morphology was similar to that described in other domestic animals. At gross examination, SCCs were highly invasive masses that could be ulcerative or nodular, causing face deformation in all cases. The other masses were non-invasive, polypoid and exhibited a good prognosis after surgical excision. Immunohistochemical expression of some cancer biomarkers were assessed in the SCC samples. There were Ki67, VEGFR-2 and COX-2 expression in almost all samples of SCC. A statistical significance association (Fisher exact test) was determined between VEGFR-2 expression and SCC ( $p = 0,01$ ). In conclusion, most of the oral cavity masses of African hedgehogs are highly malignant and the majority were poorly differentiated SCC. Also, it is important to remark that oral masses could be similar grossly, especially in initial stages, however histologically different diagnoses and prognosis could be made. Therefore, if an oral mass is detected, a throughout physical examination should always be accompanied with a histologic study.

**Key words:** *Atelerix albiventris*, hedgehog, oral tumor, oral squamous cell carcinoma



## INTRODUCCIÓN

Los erizos de tierra Africanos (*Atelerix albiventris*) se han convertido en mascotas exóticas muy populares en diversos países, ya que tienen gran aceptación por parte de personas que habitan en viviendas pequeñas y con poco espacio disponible, además de ser mascotas interactivas e interesantes (Ivey y Carpenter, 2012). En general, el manejo que requieren es poco demandante, de modo que son considerados una mascota ideal para individuos que presentan un horario de trabajo o estudio sobrecargado con una limitada cantidad de tiempo libre (Ivey y Carpenter, 2012). Específicamente en Chile, según lo reportado por un criadero de estos animales, existe un alto número de personas que han decidido ser propietarios de estas mascotas (Guzmán, 2016)<sup>1</sup>. Como antecedente, solo en este criadero, se vendieron 220 erizos de tierra durante el año 2015 (Guzmán, 2016)<sup>1</sup>.

La expectativa de vida de estos animales es de 5 años y en casos excepcionales, hasta 8 años (Heatley *et al.*, 2005). A lo largo de su ciclo vital, esta especie puede desarrollar diversas lesiones a nivel de la cavidad oral, tales como placa dental, enfermedad periodontal y tumores de diversa índole (Chaprazov, *et al.*, 2013). En cuanto a esto último, estos suelen corresponder a neoplasias malignas que tienen una alta frecuencia de presentación en animales de 3 a 5 años de edad (Ivey y Carpenter, 2012). No obstante, los reportes acerca de enfermedades presentadas por erizos de tierra son escasos y los estudios descritos en el área de oncología de cavidad oral son menos frecuentes aún, por lo que es importante explorar esta área.

En Chile, debido a la gran población de erizos de tierra ya descrito e interés de los propietarios por realizar revisiones veterinarias periódicas, se ha detectado una elevada cantidad de estas mascotas con lesiones tumorales en cavidad oral. Ante esta realidad, en el presente estudio se analizaron los cambios morfológicos y la expresión inmunohistoquímica de biomarcadores de cáncer de lesiones tumorales orales, con el objetivo de caracterizar dichas lesiones.

<sup>1</sup> GUZMAN, E. 2016. [Comunicación Personal]. Propietaria de Tus Mascotas, Criadero de Erizos de tierra. Santiago, Chile

## 2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

El erizo de tierra mantenido en cautiverio proviene del erizo de tierra pigmeo de África central, perteneciente a la familia *Erinaceidae* (Lennox y Miwa, 2016). Debido a su origen, estos animales son nocturnos, solitarios, muy activos y se encuentran adaptados a ambientes cuya temperatura no sea inferior a 22 °C. En vida libre, sus hábitos alimentarios son omnívoros, pero en cautiverio son alimentados con una dieta insectívora comercial o extruido para gatos (Ivey y Carpenter, 2012).

En general, se recomienda que los propietarios de estas mascotas los lleven a control veterinario de manera semestral. Ello debido a que los erizos de tierra no suelen manifestar signos clínicos evidentes, sino que estos sólo son detectados cuando el ejemplar tiene un daño orgánico severo y avanzado (Ivey y Carpenter, 2012). Los animales mencionados tienen predisposición a generar diversas enfermedades entre las que se encuentran enfermedad periodontal, exoftalmia traumática, bronconeumonía, cardiomiopatía dilatada, gastroenteritis bacteriana, insuficiencia renal, pólipos endometriales, estrangulamiento de extremidades anteriores o posteriores por pelos o hilos, síndrome del erizo tambaleante, acariasis por *Caparinia tripilis*, pioderma y neoplasias (carcinoma de células escamosas oral, adenocarcinoma uterino, adenocarcinoma de glándula mamaria, linfoma intestinal, mastocitoma cutáneo, hemangiosarcoma cutáneo, fibrosarcoma, entre otros) (Gardhouse y Eshar, 2015; Ivey y Carpenter, 2012).

Respecto a la cavidad oral, estas mascotas poseen una dentadura difiodonta y braquiodonta (anelodonta); sus dientes deciduos se sustituyen por una dentición permanente a la novena semana de vida. Estas mascotas presentan 36 piezas dentales, cuya fórmula es 2(I 3/2, C 1/1, P 3/2, M 3/3) (Lennox y Miwa, 2016). Resulta relevante conocer la anamnesis del ejemplar al momento de examinar la cavidad oral, ya que la dieta tendría un efecto

sobre las características de las piezas dentales y/o encía. Considerando que algunos erizos de tierra no permiten realizar un examen clínico oral completo, se recomienda emplear anestesia general inhalatoria con isofluorano o sevofluorano para llevarlo a cabo (Chaprazov *et al.*, 2013).

En diversos animales domésticos, los tumores o masas localizadas en cavidad oral son comunes y pueden ser de distinta naturaleza como malformaciones, inflamación o neoplasias (Uzal *et al.*, 2016). La presentación de estas masas varía según la especie, lo que genera diferencias en incidencia, localización y curso clínico-patológico (Lee *et al.*, 2005; Mauldin y Peters-Kennedy, 2016). Por esto, es necesario establecer una diferenciación histológica que permita diferenciar las lesiones tumorales neoplásicas de aquellos tumores no neoplásicos. Las masas no neoplásicas corresponden a tejido epitelial o mesenquimal con crecimiento aberrante y comportamiento benigno y suelen corresponder a una respuesta reactiva ante inflamación crónica (Uzal *et al.*, 2016). En el caso de lesiones neoplásicas, su origen puede ser epitelial, neuroendocrino, melanocítico, mesenquimal o hematopoyético (Baba y Catoi, 2007).

Estudios retrospectivos y reportes de casos de neoplasias o lesiones tumorales en cavidad oral de erizos de tierra son escasos. Se ha documentado que estos animales tienen predisposición a desarrollar lesiones orales incluyendo enfermedad periodontal (placa dental, tártaro), gingivitis bacteriana, absceso periodontal (Chaprazov *et al.*, 2013), osteomielitis (Martinez *et al.*, 2005), hiperplasia gingival (Lennox y Miwa, 2016) y neoplasias orales (Juan-Sallés y Garner, 2007). En relación a las neoplasias, se mencionan casos de carcinoma de células escamosas (CCE), fibrosarcoma (Raymond y Garner, 2001), fibroma odontogénico periférico (Wozniak-Biel *et al.*, 2015), osteocondroma (Peauroi *et al.*, 1994) y osteosarcoma (Lennox y Miwa, 2016). Los signos clínicos asociados a estas lesiones incluyen hiporexia o anorexia, disfagia, ptialismo, inflamación o deformación orofacial, presencia

de sangre, halitosis, gingivitis y pérdida de piezas dentales (Heatley *et al.*, 2005; Ivey y Carpenter, 2012; Chaprazov *et al.*, 2013; Lennox y Miwa, 2016).

El CCE es la tercera neoplasia más comúnmente diagnosticada en erizos de tierra, después del adenocarcinoma de glándula mamaria y linfoma (Greenacre, 2004; Heatley *et al.*, 2005). El primer reporte de CCE en *Atelerix albiventris* fue en 1992, donde Rivera y Janovitz describieron un caso postmortem de una masa localizada en maxila derecha, la cual se extendía al hueso palatino e invadía porciones de los etmoturbinarias nasales. Dicha neoplasia presentaba contaminación bacteriana y sus características histopatológicas no eran diferentes de las descritas en otras especies (Rivera y Janovitz, 1992). Posteriormente, se han descrito otros casos de CCE donde hay infiltración de la submucosa de cavidad oral y extensión a cavidad nasal (Raymond y Garner, 2001; Pei-Chi *et al.*, 2015). Adicionalmente, se reportó un caso de CCE oral en encía maxilar que indujo metástasis a un linfonodo regional y a pulmones, una condición poco frecuente (Heatley *et al.*, 2005). En un estudio retrospectivo (Raymond y Garner, 2001), realizado en una población de 66 erizos de tierra en Estados Unidos de América, un 53% fue diagnosticado con neoplasias de diversos tipos, correspondiendo cinco casos a CCE oral. Otro estudio retrospectivo (Pei-Chi *et al.*, 2015), describió que el 35,9% de erizos estudiados post-mortem (n = 39) presentó neoplasias, siendo el CCE oronasal el más frecuente.

Se ha establecido que el CCE oral tiene una alta prevalencia en ejemplares de 2 a 5,5 años de edad, sin encontrarse diferencias por sexo y sin reportes acerca de las localizaciones específicas más frecuentes dentro de la cavidad oral (Raymond y Garner, 2001; Heatley *et al.*, 2005; Pei-Chi *et al.*, 2015). En esta especie también se ha descrito un reporte de caso de CCE cutáneo, ubicado en el cuello (Couture *et al.*, 2015). La ausencia de otros reportes de CCE cutáneo permite determinar que existe una baja prevalencia de dicha neoplasia en esta localización anatómica.

El CCE se caracteriza según su patrón de crecimiento macroscópico, cuando es exofítico se desarrolla sobre la superficie de la mucosa, permitiendo una detección más temprana; mientras que cuando es endofítico tiene un crecimiento bajo la mucosa de manera erosiva e invasiva, asociándolo a una identificación de la lesión de modo tardío (Harasymczuk *et al.*, 2013). Su morfología o presentación es variable y se ha clasificado en placa, nodular, verrucosa o crateriforme (Uzal *et al.*, 2016).

En humanos, perros y gatos, se ha determinado que dicha neoplasia suele ser agresiva localmente, pues tiene potencial de invadir tejido adyacente, sin embargo, en las especies mencionadas, sólo un pequeño porcentaje de CCE orales inducen metástasis a linfonodos regionales u otros tejidos distantes (Gelberg, 2007; Mauldin y Peters-Kennedy, 2016). Histológicamente, existen sistemas que permiten establecer el grado de diferenciación de las células neoplásicas según diversas características. Se han descrito distintas formas de construir la graduación histológica basados en observaciones realizadas en humanos, no obstante, se ha logrado instaurar determinados parámetros para especies domésticas (Lee *et al.*, 2005; Doshi *et al.*, 2011).

En erizos de tierra, al igual que en otras especies domésticas, el comportamiento marcadamente invasivo del CCE oral implica, en la mayoría de los casos, un mal pronóstico, optándose muchas veces por la eutanasia (Hayes *et al.*, 2007; Pei-Chi *et al.*, 2015). Un aspecto que permite establecer la agresividad del CCE es la osteólisis que se genera a nivel de la mandíbula, maxila o cornetes nasales, lo cual puede ser evaluado mediante un estudio radiográfico de cráneo (Meier *et al.*, 2001). Respecto al tratamiento en esta especie exótica, no hay información suficiente acerca de la efectividad de la quimioterapia o radioterapia sobre esta neoplasia. No obstante, es posible que la extirpación quirúrgica total sea considerada la terapia de elección en casos precozmente diagnosticados (Chaprazov *et al.*, 2013; Lennox y Miwa, 2016; Nemeč *et al.*, 2012).

Actualmente en Chile, no se suelen obtener biopsias de estas masas orales debido a la probabilidad de generar una hemorragia intensa, riesgo de proliferación de células neoplásicas, mal pronóstico del paciente y/o ausencia de una terapia efectiva (Risso, 2016)<sup>2</sup>. Los ejemplares con neoplasia oral usualmente reciben tratamiento paliativo que consiste en el uso de antiinflamatorios no esteroidales (AINES) y antibioticoterapia en caso que sea necesario (Lennox y Miwa, 2016). Es relevante mencionar que la terapia con AINES, se encuentra basada en su acción inhibitoria de la enzima ciclooxigenasa 2 (COX-2), ya que esta se ha asociado a malignidad y mal pronóstico de sobrevivida en una variedad de neoplasias animales (Doré, 2011).

Para establecer las características de malignidad potencial de una neoplasia es necesario recurrir a otras técnicas diagnósticas. La inmunohistoquímica permite obtener mayor información patológica a través de la detección de ciertos biomarcadores (antígenos) en un tejido (Ramos-Vara y Miller, 2014). Para realizar una medición de la agresividad potencial de una neoplasia, se pueden pesquisar marcadores asociados a proliferación o diferenciación celular, adhesión celular, angiogénesis y/o apoptosis, entre otros (Takes, 2004).

Del punto de vista biológico, la agresividad de una neoplasia está asociada a mecanismos como invasión y/o proliferación celular, ya que la desregulación del ciclo celular es un factor relevante en la generación, mantención y progresión de una neoplasia con comportamiento maligno (Kusewitt y Rush, 2007). El receptor del factor de crecimiento epidérmico (del inglés *Epidermal Growth Factor Receptor*, EGFR) se puede emplear como biomarcador, ya que es una glicoproteína de transmembrana que regula el crecimiento celular al unirse con el factor de crecimiento epidérmico (EGF) o con el factor de crecimiento transformante tipo alfa (TGF $\alpha$ ). La sobreexpresión de este receptor puede asociarse a mayor probabilidad de invasión del tumor (Bánkfalvi *et al.*, 2002; Takes, 2004). En un estudio de Bergkvist *et al.* (2011) en felinos con CCE oral se determinó una elevada presencia de EGFR (Bergkvist *et al.*, 2011).

<sup>2</sup> RISSO, S. 2016. [Comunicación Personal]. Médico Veterinario del Hospital Clínico Veterinario SOS Buin Zoo. Buin, Región Metropolitana, Chile

Otro biomarcador, pero asociado a proliferación celular es la proteína Ki67, la cual se expresa en todas las etapas del ciclo celular, excepto en G0 (fase de quiescencia celular). Su presencia en alta cantidad se asocia a neoplasias altamente proliferativas y suele tener valor pronóstico (Gonzalez-Moles *et al.*, 2010). En el caso de CCE oral en felinos y humanos se ha detectado que una elevada expresión de Ki67 se asocia a un mal pronóstico del paciente y se correlaciona con la diferenciación histológica (Bergkvist *et al.*, 2011).

Adicionalmente, las isoformas del receptor del factor de crecimiento endotelial vascular (del inglés *Vascular Endothelial Growth Factor Receptor*, VEGFR) se pueden utilizar como un biomarcador debido a su función mitogénica y rol fundamental durante la angiogénesis (Neuchrist *et al.*, 2001; Guo *et al.*, 2010). Se ha detectado la sobreexpresión de las tres isoformas del marcador VEGFR (VEGFR-1, VEGFR-2, VEGFR-3) en humanos con CCE oral y de cabeza y cuello (Neuchrist *et al.*, 2001; Pianka *et al.*, 2015). En el estudio de Pianka *et al.* (2015) la presencia de este biomarcador se correlacionó positivamente con el tamaño del tumor y metástasis al linfonodo regional.

Por otro lado, COX-2 es un biomarcador que cumple un rol en la progresión de diversas neoplasias como el CCE, y que podría cumplir alguna función en las lesiones tumorales de cavidad oral de los erizos de tierra. COX-2 es una enzima que se expresa en forma inducida por el proceso de inflamación y cumple la función de actuar en la conversión de ácido araquidónico a prostaglandina E2 (PGE<sub>2</sub>). PGE<sub>2</sub> puede promover la proliferación celular, favorecer angiogénesis, incrementar invasión celular y suprimir la respuesta inmune, aspectos relevantes en la generación y mantención de una neoplasia agresiva (DiBernardi *et al.*, 2007; Mohammad *et al.*, 2011). Al respecto, se ha determinado una alta expresión de COX-2 en CCE oral de perros y gatos (DiBernardi *et al.*, 2007; Doré, 2011). Además, se encuentra bajo evaluación el efecto terapéutico de algunos inhibidores de COX-2 sobre CCE oral en especies domésticas; algunos antecedentes preliminares muestran que el 29% de los caninos tratados presentaron una remisión parcial o completa de esta neoplasia (Doré, 2011).

Pese a la elevada prevalencia de CCE oral en erizos de tierra no se conoce la existencia de un estudio que reúna los diagnósticos diferenciales de las lesiones neoplásicas de cavidad oral mediante una evaluación macro y microscópica, así como los signos clínicos presentados por las mascotas afectadas. En otras especies se ha detectado la agresividad de ciertas neoplasias orales empleando marcadores moleculares. Ante esta carencia, en la presente investigación se determinó si los tumores orales en erizos de tierra presentan estas características.



### **3. HIPÓTESIS**

Las neoplasias de cavidad oral de erizos de tierra (*Atelerix albiventris*) presentan características clínico-patológico de alta malignidad.

### **4. OBJETIVOS**

#### **OBJETIVO GENERAL**

Caracterizar clínica y patológicamente lesiones neoplásicas de la cavidad oral de erizos de tierra (*Atelerix albiventris*)

#### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Describir los principales signos clínicos asociados a la presencia de tumores en la cavidad oral de erizos de tierra.
2. Evaluar morfológicamente las lesiones neoplásicas de la cavidad oral de los erizos de tierra.
3. Analizar la expresión de biomarcadores de malignidad (VEGFR-2, Ki67 y COX-2) en neoplasias de la cavidad oral de erizos de tierra.

## 5. MATERIALES Y MÉTODOS

### Criterios de selección de las muestras:

Se seleccionaron erizos de tierra diagnosticados con una lesión tumoral en cavidad oral por un médico veterinario con experiencia. El presente estudio se realizó en clínicas veterinarias especializadas en animales exóticos ubicadas en Santiago, entre el mes de octubre del 2016 y junio del 2017, donde se analizaron muestras que cumplieran con los siguientes criterios de inclusión:

1. Erizos de tierra sin distinción de sexo o edad.
2. Presencia de una masa localizada dentro de la cavidad oral, es decir, en encía, lengua, paladar o cara interna de las mejillas y labios, a nivel maxilar o mandibular.

Se excluyeron aquellos pacientes con tumores ubicados en otros sectores de cabeza y cuello, así como lesiones cuyo origen no fuera neoplásico; estas fueron diagnosticadas clínica, citológica y/o histológicamente.

En los animales incluidos, se tomaron dos biopsias incisionales, constituidas por dos áreas representativas de la lesión (3 mm de diámetro cada una). El procedimiento se realizó bajo anestesia general inhalatoria, cuya inducción fue en una cámara con isoflurano al 5%, y la mantención con una mascarilla de isoflurano al 2%. Posteriormente, se administró meloxicam subcutáneo en dosis de 1 mg/kg. Si la mascota presentaba pobre calidad de vida asociada a la lesión en cavidad oral, se optó, bajo la autorización del dueño, a realizar eutanasia y se obtuvo una biopsia excisional post-mortem. El protocolo de eutanasia consistió en aplicar una dosis anestésica con isoflurano al 5% en una cámara de inducción y posterior administración de solución de eutanasia T-61 intracardiaca; este protocolo se encuentra aprobado por la *American Veterinary Medical Association* (AVMA, 2013). Para los procedimientos mencionados, se solicitó el consentimiento informado de los propietarios (Anexo 1).

## Bioética

El presente estudio fue aprobado por el comité de bioética de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile (Certificado N°17-2016) (Anexo 2).

## Datos clínicos y Caracterización Macroscópica

Se registraron los datos generales de cada individuo (edad, sexo, peso corporal), anamnesis, la fecha y motivo de la consulta en que se detectó la lesión en la cavidad oral y la última fecha en la que se examinó a la mascota o cuando se realizó eutanasia. Se enumeraron los signos clínicos presentados por los ejemplares desde la detección de la neoplasia oral. Se definió como tiempo de seguimiento, los días transcurridos desde el diagnóstico del tumor hasta el final del estudio o fecha en que se realizó la eutanasia.

Basándose en que el CCE es una de las lesiones orales con mayor presentación en diversas especies, se optó por clasificar los tumores según las localizaciones anatómicas descritas para esta neoplasia (Nemec *et al.*, 2012). Se consideraron las regiones de cavidad oral maxilar rostral (desde el primer incisivo al segundo premolar), maxilar caudal (desde el segundo premolar), mandibular rostral (desde el primer incisivo al segundo premolar), mandibular caudal (desde el segundo premolar), lingual, palatina y orofaríngea (Nemec *et al.*, 2012). Adicionalmente, se caracterizaron los tumores macroscópicamente, según su patrón de crecimiento en exofítico o endofítico (Harasymczuk *et al.*, 2013). La morfología o apariencia macroscópica de la lesión también se registró, clasificándola en nodular, crateriforme o pólipo. Se obtuvieron fotomacrografías de cada paciente.

## Histopatología

Las muestras de tejido se fijaron en formalina tamponada al 3,7% durante 48 a 72 horas. En cada tejido se realizaron cortes con 3 a 5 mm de espesor para observar distintos grados de profundidad de la neoplasia. Las muestras se deshidrataron e incluyeron en parafina para realizar cortes de 4 µm de grosor.

Entre dos y tres cortes de cada muestra fueron teñidos con tinción corriente hematoxilina-eosina (HE). Se obtuvieron fotomicrografías de cada muestra.

Las muestras fueron clasificadas según las características microscópicas que predominen. En el caso de CCE, se modificó la graduación histológica previamente descrita para humanos de Anneroth *et al.* (1987) citado por Doshi *et al.*, (2011). Se evaluaron tres parámetros colocando un puntaje de 1 a 4 (Tabla 1), estos fueron: grado de queratinización, pleomorfismo nuclear y etapa de invasión. Si la suma de los puntajes era entre 3 a 6 fue clasificado como Grado 1, 7 a 9 Grado 2 y 10 a 12 Grado 3. De la graduación mencionada no se consideraron tres parámetros, lo que se fundamenta en lo siguiente: En primer lugar, los bordes de invasión no fueron empleados pues las muestras no correspondieron a toda la masa, impidiendo evaluar estos bordes. En segundo lugar, no se consideró el número de mitosis al no contar con referencias para determinar un punto de corte exacto entre cada grado. En tercer lugar, tampoco se utilizó el infiltrado linfocítico, ya que no se conoce su significancia para el CCE oral en animales y debido a que éste podría estar presente en respuesta a una infección asociada al crecimiento tumoral. En el CCE, otras variantes que se presentan con menor frecuencia incluyen CCE acantolítico, CCE de células fusiformes y CCE verrucoso (Nemec *et al.*, 2012)

**Tabla 1.** Sistema de graduación histológica multifactorial para CCE oral. Modificado de Anneroth *et al.* (1987) citado por Doshi *et al.* (2011)

Parámetro Morfológico	Puntaje			
	1	2	3	4
<b>Porcentaje de células queratinizadas</b>	>50%	25-50%	5-20%	0-5%
<b>Pleomorfismo nuclear</b>	+	++	+++	++++
<b>Etapas de invasión</b>	Carcinoma-in-situ	Invasión directa (sólo lámina propia)	Invasión bajo la lámina propia, cerca de músculo, glándula salival y periosteo	Invasión extensa y profunda que reemplaza el tejido estromal e infiltra hueso

Otra posible neoplasia a ser detectada en cavidad oral son sarcomas. Estas neoplasias mesenquimales derivadas de tejido conectivo se clasificaron según las variantes histológicas descritas en perros, que son fibroma

odontogénico periférico (épulis), fibrosarcoma, mixosarcoma, liposarcoma, tumor de pared perivascular, tumor maligno de la vaina del nervio periférico, sarcoma pleomórfico, mesenquimoma, leiomiosarcoma, rabdomiosarcoma, hemangiosarcoma (Dennis *et al.*, 2011). La graduación histológica se realizó empleando las características de diferenciación celular, pudiendo ser bien diferenciado o poco diferenciado basándose en la semejanza de las células al tejido normal, actividad mitótica y necrosis asociada (Mauldin y Peters-Kennedy, 2016).

### Inmunohistoquímica (IHQ)

Se estandarizó el protocolo de técnica de inmunoperoxidasa indirecta para las muestras de tejido oral de erizos de tierra, basándose en la técnica descrita por Ramos-Vara y Beissenherz (2000). A partir de los tejidos usados para la histología convencional, se cortaron secciones consecutivas de 4 µm, que se montaron en portaobjetos tratados previamente con 3-aminopropyltriethoxysilane y secados en estufa a 37 °C por 24 horas. Las muestras se desparafinaron en xilol e hidrataron en soluciones de etanol de concentración decreciente y agua destilada, colocándolas 5 minutos en cada solución. La recuperación antigénica de los epitopos fue inducida por calor (del inglés *Heat Induced Epitope Retrieval Factor Receptor*, HIER), para lo cual las muestras se trataron en baño de vapor a 95 °C por 35 minutos en buffer citrato 10 mM, pH 6.0, para los anticuerpos primarios Ki67, COX-2 y VEGFR. En el caso de EGFR, la recuperación antigénica fue inducida por proteólisis (del inglés *Proteolytic Induced Epitope Retrieval*, PIER) con Proteinasa K durante 15 minutos a 37 °C.

Las muestras se enfriaron y se lavaron con buffer fosfato (PBS) dos veces, durante 3 minutos cada vez. Luego, se les añadió una solución bloqueadora de proteínas por 15 minutos, se extrajo el exceso y se aplicó el anticuerpo primario, según lo descrito en la Tabla 2. Posteriormente, se incubaron durante la noche a 4 °C en una cámara húmeda. Para el control negativo de la técnica se omitió el uso del anticuerpo primario y se reemplazó por PBS.

**Tabla 2.** Anticuerpos primarios empleados en los ensayos de IHQ.

<b>Anticuerpo</b>	<b>Origen</b>	<b>Tipo</b>	<b>Fabricante</b>	<b>Dilución</b>	<b>Clon</b>
Ki67	Ratón	Monoclonal	Dako	1:100	MIB-1
COX-2	Conejo	Monoclonal	Thermo Fisher	1:50	MA5-14568
VEGFR-2	Conejo	Policlonal	ABCAM	1:200	ab2349
EGFR	Ratón	Monoclonal	Thermo Fisher	1:100	MA5-12875

Se lavaron nuevamente con PBS y se añadió una solución de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 0,3% por 15 minutos para inhibir la actividad de peroxidasa endógena. Luego de lavar con PBS, se incubó con un anticuerpo secundario específico biotilado, por 30 minutos a temperatura ambiente. Posterior a un lavado con PBS, las secciones se trataron con el método de detección Streptavidina-Biotina durante 30 minutos (VECTASTAIN® Elite® ABC-HRP Kit). Posteriormente se aplicó el cromógeno diaminobencidina (DAB-Plus Substrate Kit) durante 2 minutos; seguido de una contratinción rápida con hematoxilina de Mayer por 30 segundos. Finalmente, las secciones se deshidrataron en series crecientes de etanol y se montaron con medio de montaje Entellan (Merck®, Alemania). Se obtuvieron imágenes representativas con un microscopio Leica®, modelo DM3000.

Se emplearon diferentes controles positivos según el anticuerpo utilizado; en el caso de Ki67 se utilizó un linfonodo humano. Mientras que para COX-2 se usó adenocarcinoma de mamario de gato, para VEGFR2 se utilizó riñón humano y para el anticuerpo EGFR se empleó carcinoma de células escamosas de perro. Como controles sanos de la técnica se usó un tejido correspondiente a un segmento de encía de un erizo de tierra sin lesiones y 5 casos de hiperplasia gingival de esta misma especie.

#### Análisis de expresión de la IHQ

Para la expresión inmunohistoquímica de VEGFR2 y EGFR se empleó un método semicuantitativo (H-score) que consiste en lo siguiente. Cada muestra se analizó utilizando la siguiente pauta de marcaje: 3+ (reacción intensa); 2+ (reacción moderada); 1+ (reacción débil) y 0+ (sin reacción). Se obtuvo un porcentaje de células marcadas para cada rango de intensidad de reacción. A los

resultados se les aplicó el cálculo H-score, mediante la Ecuación 1, el porcentaje para cada intensidad de reacción fue multiplicado por el valor de la intensidad de reacción correspondiente y posteriormente se sumó el producto. El resultado se encontrará en un rango de 0 a 300 (Mazières *et al.*, 2013; Inan *et al.*, 2006).

#### ECUACIÓN 1

$$\text{H-SCORE} = 1X (\% \text{ CÉLULAS } 1+) + 2X (\% \text{ CÉLULAS } 2+) + 3X (\% \text{ CÉLULAS } 3+)$$

Por otro lado, la expresión de COX-2 se cuantificó según el método Allred score. Se empleó la metodología descrita por Balan *et al.* (2011). Se clasificaron las muestras según dos valores: el puntaje de proporción (porcentaje de células positivas a COX-2) con una escala de 0 a 5; y el puntaje de intensidad de la tinción, con una escala de 0 a 3; la suma de ambos valores se evaluó a través de la escala Allred (Tabla 3) (Balan *et al.*, 2011).

**Tabla 3.** Semicuantificación de la expresión histológica de COX-2 según la clasificación Allred score (Balan *et al.*, 2011).

Puntaje de Proporción		Puntaje de Intensidad		Escala Allred	
0	0%	0	Negativo	0	0-Allred*
1	<1%	1	Leve	2, 3 y 4	1-Allred
2	1-10%	2	Moderado	5 y 6	2-Allred
3	10-33%	3	Intenso	7 y 8	3-Allred
4	33-66%				
5	>66%				

\* Para la escala Allred, la suma de los puntajes nunca va ser igual a 1

Las células positivas a Ki67 fueron cuantificadas para construir un índice proliferativo (IP). Este se calculó contando el número de células positivas a Ki67 de un total de 1000 células en campos de alto aumento (40x) de cada muestra. Las microfotografías se analizaron con el programa Image-Pro Plus (Media Cybernetics, Inc., USA) (Dutra *et al.*, 2008; Reid *et al.*, 2014).

En cada método semicuantitativo se evaluó la intensidad de la marca de cada muestra mediante la observación de 4 fotomicrografías seleccionadas en forma aleatoria. Para la evaluación sólo se consideraron las células neoplásicas, sin incluir el infiltrado inflamatorio. Los datos se dividieron en dos grupos de expresión (baja y alta) considerando la mediana como punto de corte (Bergkvist *et al.*, 2011; Dickson *et al.*, 2007).

### Análisis Estadístico

Se utilizó el programa Microsoft Excel e InfoStat para ingresar y analizar los datos. Los datos clínicos generales se revisaron mediante estadística descriptiva epidemiológica. Además, para establecer asociación entre los biomarcadores estudiados se empleó la prueba exacta de Fisher, considerando significancia estadística con una  $p < 0,05$ .



## 6. RESULTADOS

De un total de 1034 erizos de tierra examinados, 73 individuos (7%) presentaron como motivo de consulta el crecimiento de una lesión tumoral dentro de la cavidad oral. En este grupo, se obtuvo un total de 30 biopsias de lesiones tumorales de cavidad oral. Sin embargo, nueve muestras fueron excluidas debido a las siguientes razones: 7 fueron diagnosticadas como hiperplasia gingival, lesión tumoral no neoplásica; 1 presentaba alto grado de necrosis, que impidió diagnosticar la lesión; la última se excluyó por no encontrarse en cavidad oral, sino en la articulación temporo-mandibular, este caso fue diagnosticado como lesión fibro-ósea proliferativa.

Así, 21 erizos de tierra se diagnosticaron con neoplasia oral, de los cuales 11 fueron hembras y 10 machos adultos, con una edad mediana de 4,3 años (2,1 a 6,5) (Tabla 4). De las muestras obtenidas, 4 fueron biopsias excisionales, una biopsia incisional y 14 muestras se extrajeron post-mortem. En 2 casos se pudo realizar una necropsia bajo el consentimiento de los propietarios. La mediana de tiempo de seguimiento fue 47 días, con una desviación estándar de 60 días, no se incluyeron dos individuos (caso 10 y 15) a los cuales se les realizó eutanasia en la primera consulta.

Se detectaron cuatro tipos de neoplasia, 17 casos de CCE (81%) (Fig. 1E-I), 2 casos de fibroma odontogénico periférico (9,5%) (Fig 1A-B), 1 sarcoma indiferenciado (4,8%) (Fig 1C) y 1 hemangiosarcoma (4,8%) (Fig 1D).

Respecto a los signos clínicos asociados a la lesión oral (Tabla 5), el más común fue la pérdida de piezas dentales cercanas a la neoplasia, afectando al 71% de los pacientes. El tumor oral estaba ulcerado en 13 individuos, donde 10 de ellos presentaron sangrado gingival. En un 38% de los ejemplares los dueños indicaron una notable disminución del apetito, no obstante, sólo en 5 hubo una baja de peso que osciló entre 32 a 199 gramos; esta reducción de masa corporal ocurrió durante un periodo de 20 a 56 días, generando una disminución de la condición corporal de 5% a 43%.

**Tabla 4.** Características de los erizos de tierra diagnosticados con neoplasias en cavidad oral (n = 21).

ID	Edad‡	Sexo	Peso (gr)	Localización en Boca	Tiempo de Seguimiento (días)	Aspecto Macroscópico	Diagnóstico Histológico
1	5,5	M	601	Paladar	20	Exofítico Nodular	CCE
2	3,3	M	452	Maxila Caudal	56	Exofítico Nodular	CCE *
3	4,3	M	307	Paladar	187 †	Pólipo pedunculado	Sarcoma indiferenciado
4	4,1	H (oh)	424	Maxila Caudal	56	Endofítica Crateriforme	CCE *
5	5,1	H	235	Maxila Caudal	18	Endofítica Crateriforme	CCE
6	3,7	H	323	Maxila Caudal	0	Endofítica Crateriforme	CCE
7	3,1	M	306	Maxila Caudal	44	Exofítico Nodular	CCE **
8	5,0	M	265	Maxila Caudal	20	Endofítica Crateriforme	CCE
9	3,6	H	271	Maxila Caudal	22	Exofítico Nodular	CCE *
10	2,1	H	300	Mandíbula Caudal	0	Endofítica Crateriforme	CCE
11	5,0	M	sin dato	Maxila Caudal	19	Exofítico Nodular	CCE
12	4,7	M	332	Maxila Caudal	67	Endofítica Crateriforme	CCE
13	6,5	M	sin dato	Mandíbula Caudal	47	Endofítica Crateriforme	CCE
14	3,4	H	294	Maxila Caudal	92	Exofítico Nodular	CCE
15	5,0	M	350	Mandíbula Caudal	0	Endofítica Crateriforme	CCE
16	2,4	H	412	Maxila Caudal	45	Endofítica Crateriforme	CCE
17	5,8	H	310	Mandíbula Caudal	155	Exofítico Nodular	CCE
18	5,4	H (oh)	342	Mandíbula Craneal	224 †	Nodular	Hemangiosarcoma
19	3,8	H	307	Maxila Craneal	54 †	Pólipo pedunculado	Fibroma Odontogénico
20	4,7	H	347	Maxila Caudal	7	Endofítica Crateriforme	CCE
21	2,2	M	433	Mandíbula Craneal	87 †	Pólipo pedunculado	Fibroma Odontogénico

M = Macho; H = Hembra; H (oh) = Hembra esterilizada

‡ Edad (años) obtenida en la última consulta en que se examine la mascota.

\* Dos muestras obtenidas, ambas con el mismo diagnóstico.

\*\* Primera muestra no diagnóstica debido a gran cantidad de necrosis, segunda muestra sugerente de CCE.

† Erizos vivos al final del estudio

**Tabla 5.** Signos clínicos de los erizos de tierra diagnosticados con neoplasias en cavidad oral (n = 21).

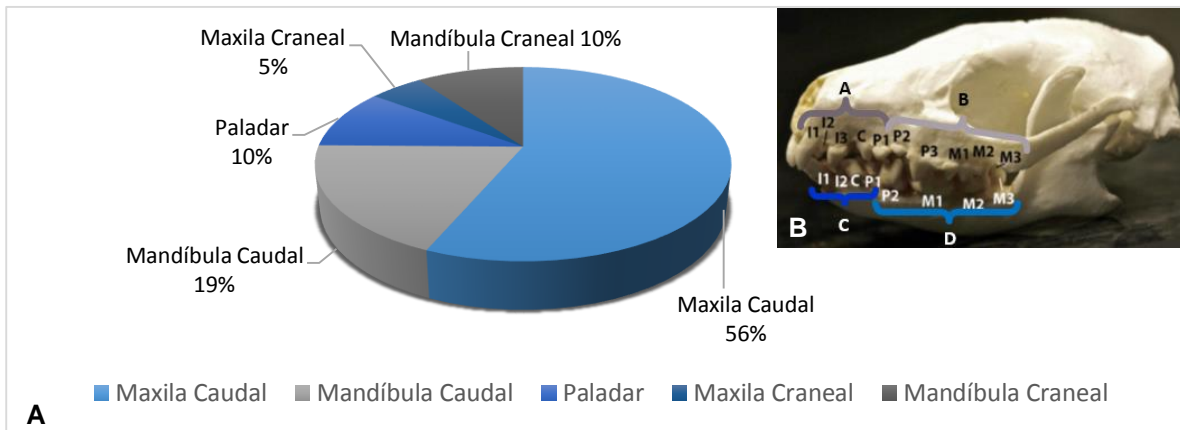
<b>Signos clínicos (n = 21)</b>	<b>Frecuencia absoluta</b>	<b>Frecuencia relativa</b>
Pérdida de piezas dentales	15	71%
Ulceración	13	62%
Sangrado gingival	10	48%
Hiporexia	8	38%
Disnea inspiratoria	8	38%
Baja de peso	5	24%
Exoftalmia	5	24%
Endoftalmia	2	10%
Fractura patológica	1	5%

Ocasionalmente, el gran tamaño de la neoplasia generaba signos clínicos más evidentes para los propietarios, como exoftalmia ipsilateral, observada en 5 casos (Fig. 1H) y endoftalmia ipsilateral en 2 (10%) (Fig. 1G). Esos mismos individuos y uno adicional -8 casos en total- presentaron disnea inspiratoria, lo cual se asocia a que la masa neoplásica afectaba los meatos nasales ipsilaterales al tumor impidiendo una respiración adecuada. Esto fue corroborado en las dos necropsias realizadas en las que se observó tejido neoplásico e inflamatorio afectando las etmoturbinarias. Además, asociado a la invasión del tumor, se detectó un caso donde el tumor generó una fractura patológica en la porción molar del cuerpo mandibular (Fig. 1I). Una fractura patológica se genera por un debilitamiento óseo y osteopénico (Voss y Montavon, 2009)

Macroscópicamente, la localización dentro de la cavidad oral donde se encontró la mayor cantidad de neoplasias fue en maxila caudal (57,1%) y en mandíbula caudal (19%). Un 9,5% de los tumores se localizó en mandíbula craneal, mientras que otro 9,5% estaba en paladar y un 4,8% se encontraba en maxila craneal (Fig. 2). Del total de neoplasias, el 86% provenía de encía, mientras que en 2 casos (9,5%) la lesión se encontraba en el paladar duro (Fig. 1C) y en solo un caso (4,8%) se localizó en el labio (Fig. 1D).



**Figura 1.** Fotomicrografías de las lesiones neoplásicas de cavidad oral de erizos de tierra según el diagnóstico histológico. **A.** Tumor verrucoso, pedunculado, de base angosta, ulcerada, del mismo color de la encía maxilar, fibroma odontogénico periférico (animal 19). **B.** Tumor verrucoso de base angosta en encía mandibular, incisivos color gris, fibroma odontogénico periférico (animal 21). **C.** Tumor verrucoso de base ancha de color rojiza con sectores amarillos multifocales, ubicado paladar, de tamaño 2 cm de largo por 1 cm en el sector más ancho, sarcoma indiferenciado (animal 3). **D.** Tumor nodular con base ancha, su coloración era rojiza, el tamaño de la masa era 0.6 cm de diámetro, hemangiosarcoma (animal 18). **E-F.** Evolución de un CCE oral en maxila caudal de morfología nodular con crecimiento exofítico durante un periodo de 39 días (animal 7). **E.** Detección del tumor oral como lesión costrosa (25/12/2016). **F.** Progresión del tumor desplazando la lengua hacia la izquierda y generando pérdida de premolares y molares, la masa evitaba que el paciente cerrara la boca (26/01/2017). **G.** Tumor crateriforme con crecimiento endofítico en encía generó una deformación en maxila caudal y endofalmia, CCE oral (animal 8). **H.** Tumor crateriforme y ulcerado con crecimiento endofítico produciendo sobrecrecimiento de volumen maxilar y exoftalmia (cabeza de flecha) (animal 6). **I.** Tumor crateriforme con crecimiento endofítico en encía causó una fractura expuesta del hueso mandibular (animal 10).



**Figura 2. A.** Distribución de las neoplasias según localización anatómica de los erizos de tierra diagnosticados con neoplasias en cavidad oral, (n = 21). **B.** Fotografía de un cráneo de erizo de tierra con señalización de las piezas dentales (I = incisivos, P = Premolares, M = Molares). Las letras A-D identifican las localizaciones anatómicas (A = Maxila Craneal, B = Maxila Caudal, C = Mandíbula Craneal, D = Mandíbula Caudal). Imagen modificada de Lennox y Miwa, 2016.

Los casos de fibroma odontogénico periférico se presentaron como un pólipo pedunculado, ulcerado, del mismo color de la encía y localizado en la encía marginal de mandíbula craneal o maxila craneal (Fig. 1A, 1B). Al realizar una extracción completa del tumor, los pacientes dejaron de presentar dificultad para alimentarse. Histológicamente, (Fig. 3A) el estroma de colágeno denso desplaza la mucosa hiperplásica. Dicho estroma engrosado se caracteriza por la presencia de estroma odontogénico. Estas células presentan núcleos elongados a estrellados, con escaso citoplasma y anisocariosis moderada. Se observó un infiltrado inflamatorio linfoplasmocítico moderado multifocal con leve cantidad de eosinófilos presentes y neutrófilos asociados a necrosis focal. La tasa proliferativa fue muy baja (0-1 figura mitótica en 10 campos de alto aumento). Los dos erizos de tierra estaban vivos al concluir el estudio.

El caso de sarcoma indiferenciado se presentó como un pólipo pedunculado en el paladar, cercano a la cara lingual de los incisivos (Fig 1C). Su coloración era roja con sectores multifocales amarillos. Al someter al paciente a una extirpación quirúrgica completa del tumor, este dejó de manifestar la disfagia leve que exhibía previamente. Histológicamente, (Fig. 3B) el estroma estaba engrosado por la presencia de células neoplásicas fusiformes separadas por tejido conectivo. Dichas células tenían núcleos elongados y nucléolos prominentes. Presentaba un infiltrado

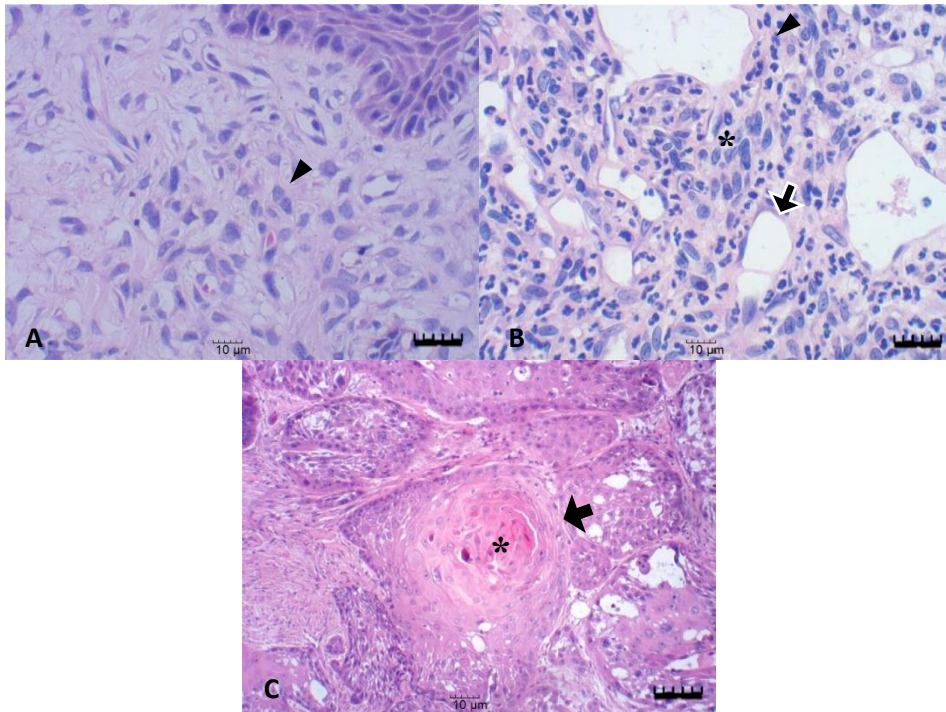
inflamatorio con moderada cantidad de neutrófilos y pocos linfocitos. Tenía una baja tasa proliferativa (6 figuras mitóticas en 10 campos de alto aumento). Este erizo estaba vivo al concluir el estudio, al igual que los 2 ejemplares descritos anteriormente.

Por otro lado, el caso hemangiosarcoma fue macroscópicamente nodular con coloración rojiza, de 0,6 cm de diámetro y se ubicaba en el labio inferior, rostral a los incisivos mandibulares. El paciente no presentaba signos clínicos asociados al desarrollo del tumor y la detección fue realizada por los dueños. Histológicamente, bajo la mucosa se observó la proliferación de células endoteliales neoplásicas que formaban bandas de tejido con numerosos vasos sanguíneos separados por tejido conectivo con 3 figuras mitóticas en 10 campos de alto aumento. Además, presentaba una infiltración linfocitaria focal e inflamación neutrofílica asociada a focos necróticos. Este paciente, también se encontraba vivo al concluir el estudio.

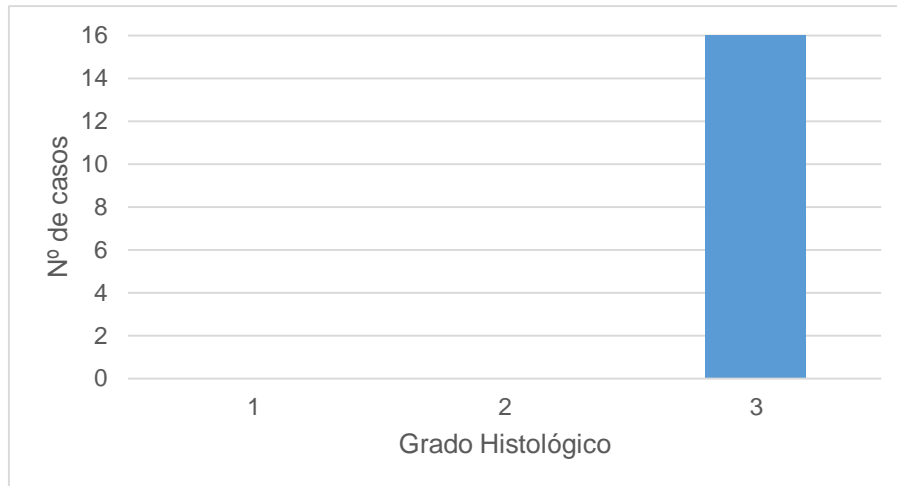
El 81% de los tumores orales (17/21) correspondió a CCE, donde el 41% (7/17) fueron nodulares exofíticos (Fig. 1E-F), generando un aumento de tamaño visible por los dueños. Por otro lado, el 59% de los pacientes (10/17) tenían tumores endofíticos crateriformes, los cuales al crecer bajo la mucosa fueron detectados tardíamente generando una deformación de la maxila o mandíbula. Se debe resaltar que la totalidad de los erizos de tierra con CCE oral fueron eutanasiados debido a que el crecimiento del tumor primario estaba afectando la calidad de vida de los ejemplares.

Histológicamente, los 16 casos de CCE oral fueron grado 3 (Fig. 4). Las células neoplásicas se encontraban distribuidas en nidos en gran parte de las muestras (Fig. 5A); en algunas muestras se observaron islas de dichas células (Fig. 3C). Para la descripción histológica de CCE no se incluyó la muestra N° 7 debido al alto grado de necrosis tisular que impidió una comparación adecuada. En la totalidad de las muestras estudiadas (16), se detectó una baja cantidad de queratinización entre las células neoplásicas (entre cero a 5%), así como desmoplasia. El alto nivel de invasión a tejidos adyacentes fue observado en 38% de estas neoplasias (6 de 16), pues en 5 muestras se observó invasión ósea (Fig.

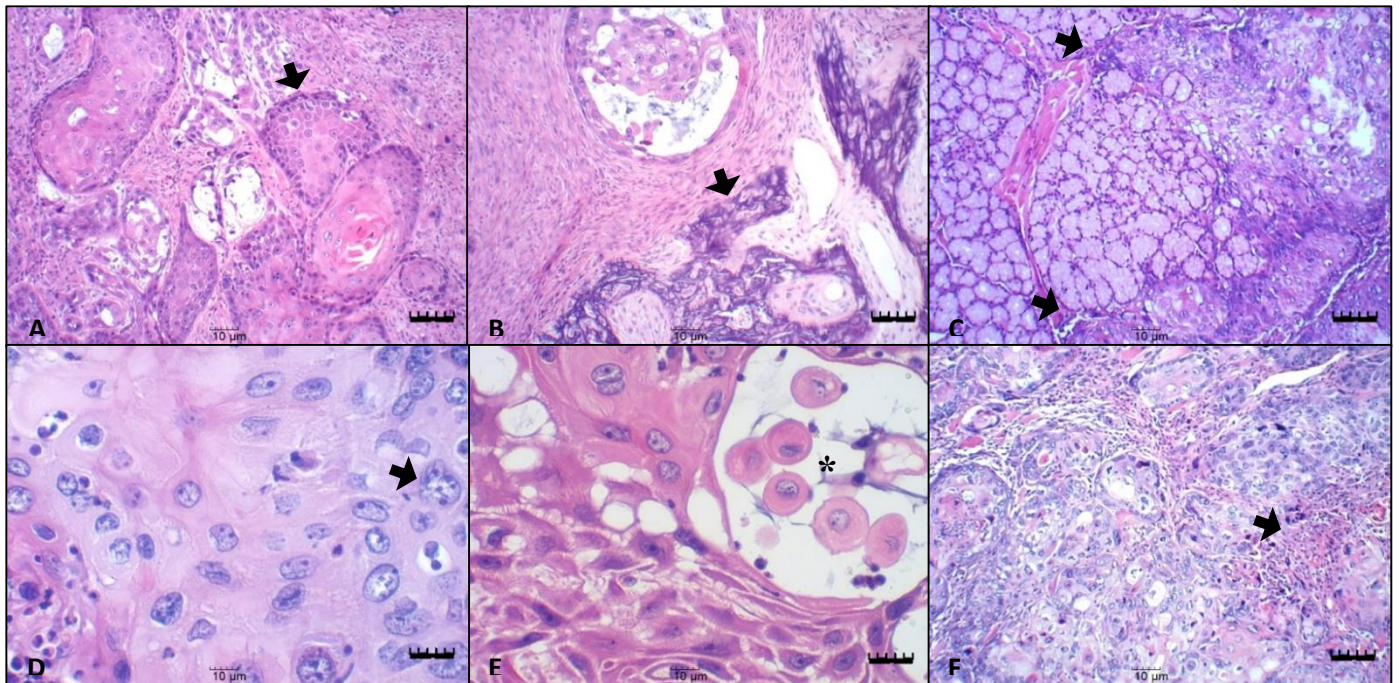
5B), identificada como espículas irregulares con bandas densas de fibroplasia que se interpretan como hueso inmaduro. Además, en una muestra las células neoplásicas invadieron glándula salival adyacente (Fig. 5C). El CCE oral tuvo un alto nivel de anisocariosis (Fig. 5D) y pleomorfismo nuclear, se observaban uno a dos nucléolos presentes. En ocho muestras se observó leve acantolisis (Fig. 5E) y en diez muestras leve cantidad de células neoplásicas fusiformes. Las figuras mitóticas fueron menos de 10 en 10 campos de alto aumento. Finalmente, la mayoría de las muestras presentó un infiltrado inflamatorio linfocítico moderado entre las células neoplásicas con neutrófilos asociados a zonas de necrosis (Fig. 5F).



**Figura 3.** Fotomicrografías y características de los tipos de neoplasia detectadas en la cavidad oral de los erizos de tierra. **A. Fibroma odontogénico periférico** estroma odontogénico en una matriz laxa (cabeza de flecha) (animal 19). **B. Sarcoma indiferenciado** células neoplásicas fusiformes (asterisco) forman múltiples espacios vasculares separados por tejido conectivo (flecha), moderado infiltrado inflamatorio (cabeza de flecha) (animal 3). **C. Carcinoma de células escamosas** oral, las células neoplásicas invaden dermis y se distribuyen en islas (flecha) se observa queratinización (asterisco) (animal 2). Barra = 30 µm.



**Figura 4.** Graduación histológica de CCE oral en erizos de tierra (n = 16), basada en el sistema de graduación histológica multifactorial para CCE oral modificado de Anneroth *et al.* (1987) citado por Doshi *et al.* (2011).



**Figura 5.** Características del carcinoma de células escamosas oral pobremente diferenciado. **A.** Las células neoplásicas se disponen en nidos rodeados por estroma hipocelular (flecha) (animal 2). **B.** Invasión ósea constituida por espículas óseas que forman un patrón irregular y basofílico de márgenes poco definidos (flecha) (animal 2). **C.** Invasión de los acinos mucosos de una glándula salival por células neoplásicas epiteliales (flechas), (animal 17). **D.** Células neoplásicas con anisocariosis marcada (flecha), (animal 17). **E.** Nido de células neoplásicas con acantolisis marcada (asterisco) (animal 4). **F.** Infiltrado inflamatorio multifocal conformado por linfocitos (flecha) y granulocitos (animal 17). Barra de 30 µm.



Respecto a los biomarcadores estudiados en los tejidos de CCE oral, el 100% de las muestras presentaron una marca positiva para VEGR2 y Ki67, y el 71% para COX-2, con diferentes intensidades en cada caso (Tabla 6) (Fig. 7-9). En el caso del EGFR, no hubo marca positiva en ningún caso estudiado (CCE, sarcoma, fibroma odontogénico periférico, hiperplasia gingival y encía sana) (Fig. 5A). Se debe recalcar que, tal como se mencionó previamente, se excluyó la muestra N° 7 de los ensayos de IHQ, ya que presentaba una alta proporción de tejido necrótico que impedía una adecuada lectura del resultado.

Tal como se menciona en la literatura, Ki67 se expresó a nivel nuclear. En los CCE estudiados, la presencia de este biomarcador se distribuyó con leve predominancia en las células neoplásicas de la periferia de los nidos (Fig. 5B). En el caso del fibroma odontogénico periférico y sarcoma indiferenciado, algunas células neoplásicas del estroma, sin una localización específica, tuvieron una reacción positiva, lo cual implica que dichas células estaban proliferando. De manera particular, en la hiperplasia gingival la reacción a Ki67 se centró en algunas células del estrato basal del epitelio. Para el CCE, la mediana fue 13% con bastante dispersión de los datos, mientras que para la hiperplasia gingival fue 6% (Fig. 6)

Para COX-2, en el CCE oral la reacción positiva tuvo un predominio en el citoplasma de las células neoplásicas en la periferia de los nidos y ocasionalmente se observó una marca más intensa en la zona perinuclear (Fig. 5C). En el caso del fibroma odontogénico periférico, se observó una leve marca positiva de las células neoplásicas del estroma de modo multifocal, mientras que en el sarcoma indiferenciado no hubo marca en las células neoplásicas; situación similar ocurrió en las células epiteliales de dos casos de hiperplasia gingival donde no hubo reacción positiva. No obstante, en tres casos de hiperplasia gingival se observó una tinción en el citoplasma de las células del estrato basal y espinoso del epitelio. La mediana de expresión de COX-2 en la hiperplasia gingival fue 1,5 que corresponde a 1-Allred, el valor de la mediana del CCE fue mayor (2,5) que coincide también con 1-Allred, pero existía una elevada dispersión de los datos (Fig. 7).

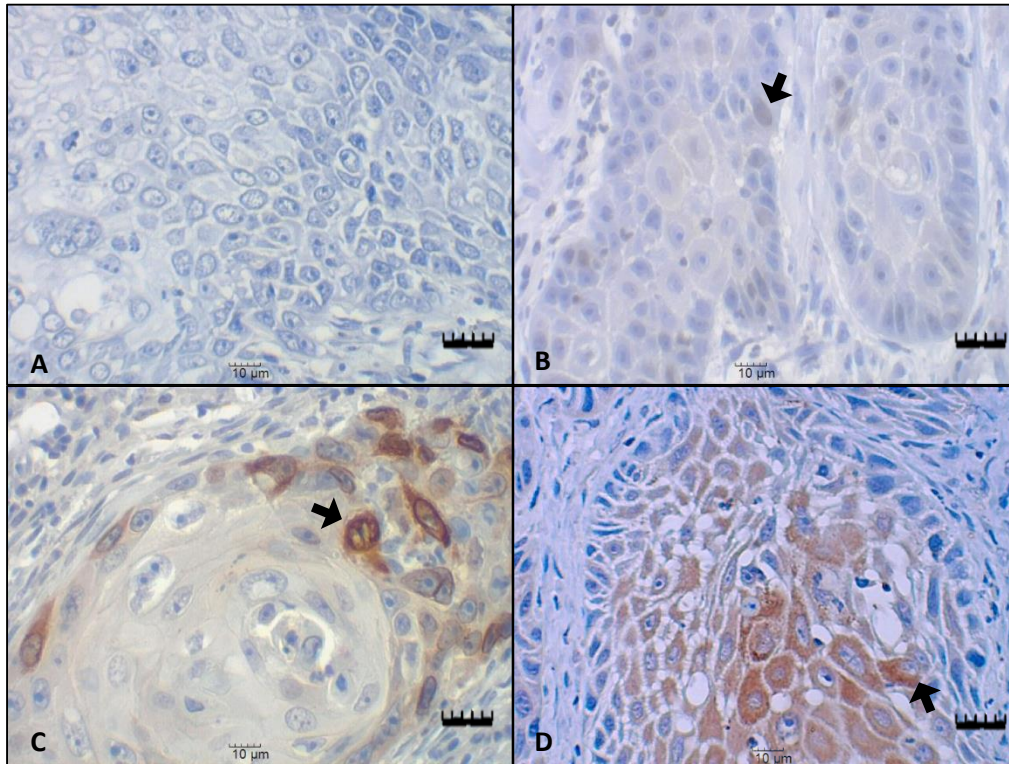
**Tabla 6.** Expresión de Ki67, COX-2 y VEGFR en casos de neoplasia oral, hiperplasia gingival y encía sana de erizos de tierra (n=27).

Neoplasia	ID	Ki67 (IP)	COX-2 (Escala Allred)	VEGFR (H-Score)
Carcinoma de Células Escamosas (n=16)	1	20%	0-Allred	166
	2	19%	2-Allred	183
	4	13%	1-Allred	152
	5	13%	0-Allred	70
	6	15%	3-Allred	125
	8	25%	2-Allred	160
	9	13%	1-Allred	103
	10	25%	1-Allred	194
	11	3%	1-Allred	122
	12	25%	1-Allred	140
	13	10%	1-Allred	204
	14	12%	2-Allred	190
	15	4%	0-Allred	58
	16	3%	0-Allred	135
	17	43%	1-Allred	161
	20	4%	0-Allred	144
Sarcoma	3	2%	0-Allred	8
Hemangiosarcoma	18	*	*	*
Fibroma Odontogénico Periférico	19	12%	1-Allred	23
	21	7%	1-Allred	9
Hiperplasia Gingival	H1	2%	0-Allred	63
	H2	6%	1-Allred	97
	H3	20%	1-Allred	110
	H4	8%	2-Allred	92
	H5	4%	0-Allred	35
Encía sana	E.2	0%	1-Allred	0

\*no realizada

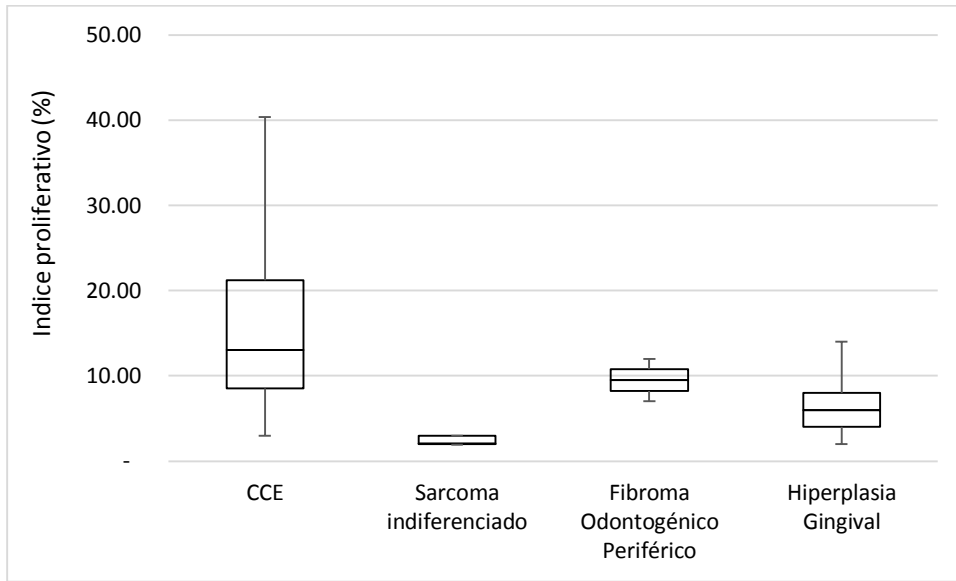
IP = Índice Proliferativo, porcentaje de células positivas de un total de 1000 células  
 Allred = porcentaje de células positivas ponderado por la intensidad en escala 0 a 3-Allred

H-Score = porcentaje de células positivas multiplicado según la intensidad (rango de 0 a 300)

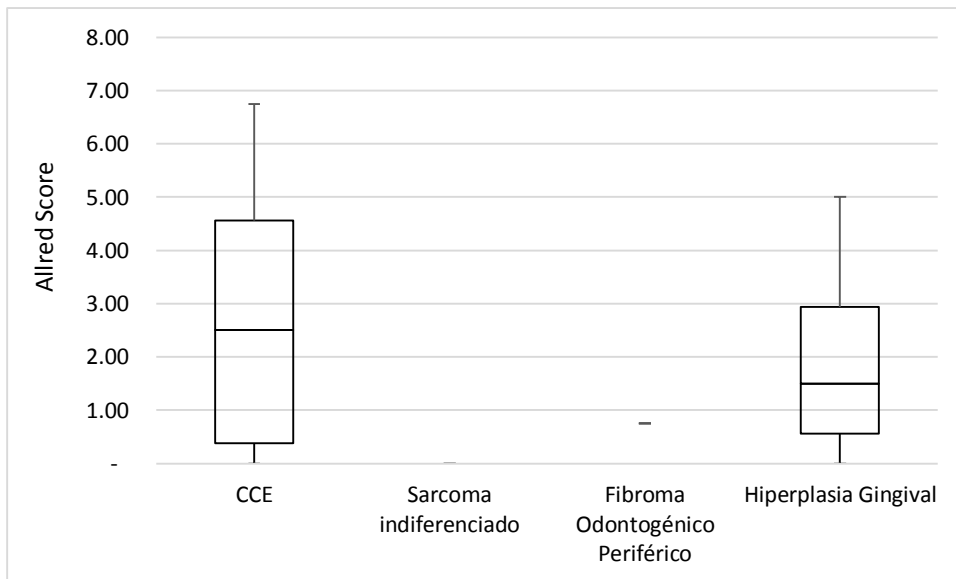


**Figura 6.** Fotomicrografías de reacción del CCE oral en erizos de tierra para cada biomarcador. **A.** Células neoplásicas sin reacción positiva al biomarcador **EGFR**. (animal 17). **B.** Marca positiva leve al biomarcador **Ki67** en el núcleo de células neoplásicas en la periferia de una distribución en nido (flecha). (animal 1). **C.** Marca positiva moderada e intensa (flecha) al biomarcador **COX-2** en células neoplásicas en el borde lateral de una distribución en nido. (animal 8) **D.** Marca positiva moderada e intensa (flecha) al biomarcador **VEGFR** en células neoplásicas en el interior de una distribución en nido. (animal 11). Barra = 30 µm.

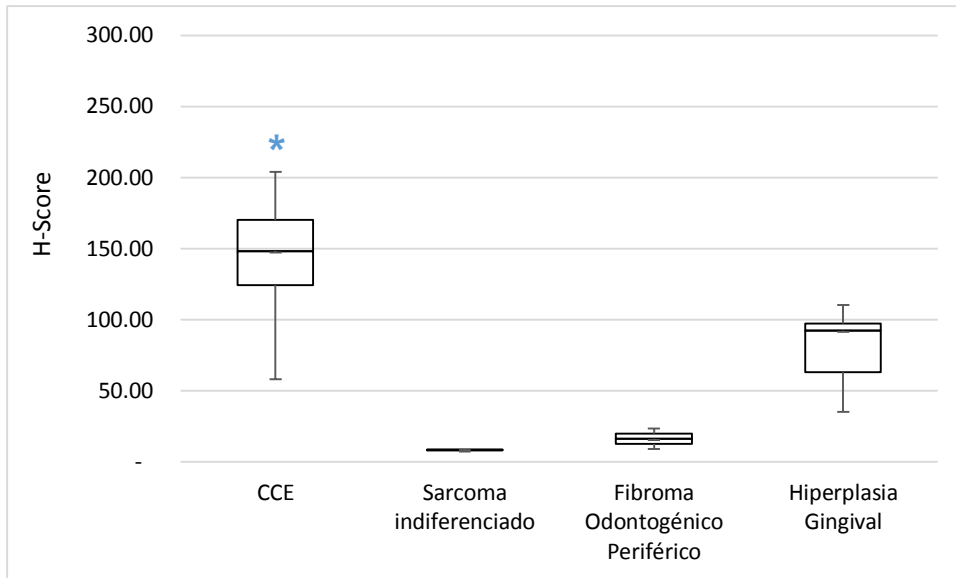
Respecto al biomarcador VEGFR2, en las muestras de CCE oral el predominio de la marca positiva se localizó en el citoplasma de las células neoplásicas al interior de los nidos (Fig. 5D). En los cortes de fibroma odontogénico periférico se observó una reacción positiva leve con una distribución multifocal; similar expresión se observó en el sarcoma indiferenciado. En la hiperplasia gingival la reacción positiva se centró en el estrato basal y espinoso del epitelio. La mediana de expresión del VEGFR2 para CCE fue H-score 148, al igual que en los biomarcadores anteriores también se observó una notable variación del puntaje (Fig. 8). En el caso de la hiperplasia gingival la mediana fue 92, un valor menor al de la neoplasia.



**Figura 7.** Índice proliferativo según expresión de Ki67, en neoplasias orales e hiperplasia gingival. No hubo diferencia significativa en la expresión de Ki67 entre CCE e hiperplasia gingival ( $p = 0,31$ ).



**Figura 8.** Semicuantificación de la expresión de COX-2 para las distintas neoplasias estudiadas e hiperplasia gingival. No hubo diferencia significativa en la expresión COX-2 entre CCE e hiperplasia gingival ( $p = 0,64$ ).



**Figura 9:** Semicuantificación de la expresión de VEGFR2 para las distintas neoplasias estudiadas e hiperplasia gingival. La expresión de VEGFR2 fue significativamente mayor en CCE v/s hiperplasia gingival ( $p = 0,01$ ).

Al analizar la potencial asociación entre la expresión observada de cada biomarcador en el CCE oral, en comparación con hiperplasia gingival, una lesión benigna, se utilizó la mediana como punto de corte entre baja y alta expresión (Ki67 = 13%; VEGFR = 135; COX-2 = 2). Se determinó que la expresión de VEGFR está asociada con el tipo de patología (CCE v/s hiperplasia gingival), siendo más alta en el primer caso ( $p = 0.01$ ). Los análisis realizados señalan también que la expresión de Ki67 ( $p = 0.31$ ) y COX-2 ( $p = 0.64$ ) no están asociados con ambas entidades patológicas mencionadas previamente.

## 7. DISCUSIÓN

El propósito central del presente estudio fue caracterizar clínica y patológicamente lesiones neoplásicas de cavidad oral en erizos de tierra (*Ateleurix albiventris*). Esta especie forma parte del orden *Erinaceomorpha* y la subfamilia *Erinaceinae*, que incluye 16 especies pertenecientes a 5 géneros. La información sobre neoplasias en especies del mismo orden taxonómico del erizo de tierra no es muy abundante; no obstante, se han descrito dos reportes de carcinoma de células escamosas en el género *Hemiechinus*, uno localizado en las cuatro extremidades (*Hemiechinus collaris*) y el otro en el canal auricular (*Hemiechinus auritus*) (Frye y Dutra, 1973; Gál *et al.*, 2009). En este contexto, considerando que las características histológicas de las neoplasias son similares entre diversas especies, resultó pertinente emplear como referencia comparativa perros, gatos y humanos, cuyas neoplasias orales se encuentran ampliamente descritas.

En el estudio observacional que se ha desarrollado, la evidencia empírica de lesiones en cavidad oral que presentaban los erizos fue notable, pues la mayoría de ellos fueron llevados a la consulta veterinaria cuando el tumor oral era visible por los dueños o había generado una deformación facial evidente. Se considera que esta situación ocurrió porque los erizos de tierra no suelen manifestar signos clínicos tempranos que sean detectados con facilidad por sus propietarios.

El CCE fue detectado como la neoplasia más común que afectaba a la cavidad oral de los erizos de tierra. Esto coincide con la elevada prevalencia de CCE oral descrita en dos estudios retrospectivos de neoplasias en la mencionada especie; según Raymond y Garner (2001), de un total de 35 individuos con neoplasias 14% presentó CCE oral, mientras que, según Pei-Chi *et al.* (2015) de una muestra de 14 animales, el 13% tenía CCE oral. En los reportes mencionados, no se reportó la localización más frecuente en cavidad oral (Raymond y Garner, 2001; Pei-Chi *et al.*, 2015). En el presente estudio, la totalidad de CCE orales fueron grado histológico 3, lo cual es significativo, especialmente en el contexto que no hay reportes previos que den cuenta de este dato en esta especie. En cambio, en caninos y humanos el CCE oral mayormente se identifica como bien

diferenciado, es decir de bajo grado histológico (Nemec *et al.*, 2012). Es posible que el diagnóstico tardío explique este hallazgo. Esta situación resulta interesante, pues se trata de una primera aproximación para futuras descripciones acerca del CCE en erizos de tierra.

Los individuos con neoplasia oral en este estudio tenían 4,3 años como mediana de edad (rango de 2,1 a 6,5), lo cual coincide con el rango de edad establecido en otros estudios para la presentación de neoplasias orales (2 a 5.5 años) (Raymond y Garner, 2001; Heatley *et al.*, 2005; Pei-Chi *et al.*, 2015).

En perros, a diferencia de erizos, se ha determinado que la localización de la masa dentro de la cavidad oral suele tener una asociación con el grado histológico (Nemec *et al.*, 2012). En esta especie, el CCE no tonsilar ubicado en maxila o mandíbula rostral suele ser bien diferenciado, pero cuando se encuentra en cavidad oral a nivel caudal (base de lengua) es poco diferenciado (Nemec *et al.*, 2012; Liptak y Withrow, 2013). El difícil acceso visual a una ubicación en maxila o mandíbula caudal puede generar una detección tardía de la neoplasia en comparación con una localización más craneal (Fulton *et al.*, 2013). Debe señalarse que en este estudio la mayoría de los casos de CCE oral se localizaron en maxila caudal o mandíbula caudal, lo cual podría ser un indicio de un diagnóstico tardío. Para constatar la afirmación previamente planteada, es necesario realizar otros estudios y determinar si en esta especie existe una asociación entre una ubicación dentro de cavidad oral y su potencial invasivo.

Los signos clínicos exhibidos por los individuos y descritos en este estudio coinciden con los señalados en esta especie en otros reportes, así como los observados en gatos y perros con CCE oral (Heatley *et al.*, 2005; Liptak y Withrow, 2013; Wypij, 2013; Lennox y Miwa, 2016). En felinos y caninos se describe también dolor crónico, desalineamiento de piezas dentales, infección oral, aversión al alimento, dificultad para limpiarse, epistaxis y caquexia (Liptak y Withrow, 2013; Wypij, 2013). El signo clínico de pérdida de piezas dentales cercanas al tumor oral se asocia a la inducción de lisis ósea por parte de la neoplasia (Liptak, Withrow, 2013). Esta semejanza de signos clínicos presume que el comportamiento biológico de CCE es similar a las especies domésticas.

Respecto al aspecto macroscópico de las neoplasias, el CCE oral fue el único tumor que generó deformación facial y se presentó de modo endofítico crateriforme generando un crecimiento bajo la mucosa, ocasionando signos clínicos evidentes de modo tardío, invasión de etmoturbinarias, exoftalmia o endoftalmia, disnea y hasta una fractura patológica. El crecimiento de esta masa, no muy evidente externamente, puede confundir un CCE oral en etapa inicial con un engrosamiento gingival difuso asociado a hiperplasia gingival (Lennox y Miwa, 2016). En humanos, algunos estudios sugieren que el patrón de crecimiento de CCE de cabeza y cuello tiene una relación con pronóstico y respuesta al tratamiento (Harasymczuk *et al.*, 2013). Sin embargo, en los individuos analizados en el estudio de Harasymczuk *et al.* (2013) se determinó que no hubo diferencias estadísticas en el grado histológico de CCE oral con el patrón de crecimiento. No obstante, se estableció que los tumores endofíticos al ser detectados tardíamente solían generar metástasis en el linfonodo regional o reaparición clínica. En el presente estudio, no se analizaron los linfonodos submandibulares de los pacientes; este aspecto podría ser interesante de evaluar para poder determinar si existe metástasis asociada al aspecto macroscópico de la neoplasia y/o su grado histológico.

Como enfoque inicial de aproximación diagnóstica, se debería considerar como aspectos relevantes los signos clínicos asociados, la localización anatómica y características macroscópicas del tumor oral, pero el diagnóstico definitivo debe ser establecido mediante histopatología (Uzal *et al.*, 2016). Al respecto, se observó que los signos clínicos más severos se generaron en los casos de CCE, neoplasia caracterizada por su comportamiento agresivo y alto nivel de invasión en tejidos adyacentes. La invasión en la submucosa y reemplazo de etmoturbinarias o hueso mandibular reflejó el comportamiento maligno de esta neoplasia y coincide con reportes previos en esta especie (Rivera y Janovitz, 1992; Raymond y Garner, 2001). Adicionalmente, la invasión ósea fue observada histológicamente en un 31% de los ejemplares. En gatos el CCE oral también genera invasión y lisis del hueso adyacente, caracterizado por una resorción ósea osteoclástica (Martin *et al.*, 2011; Wypij, 2013; Martin *et al.*, 2015). El daño a nivel óseo se asocia con altos niveles



de la proteína relacionada con la hormona paratiroidea, la cual permite la activación de osteoclastos induciendo resorción ósea (Wypij, 2013).

El comportamiento agresivo del CCE oral conduce a optar por eutanasia cuando los erizos de tierra presentan una deformación facial severa, sangrado profuso y/o disnea inspiratoria. Se ha reportado que en felinos, esta neoplasia va progresando a pesar del tratamiento con radio y/o quimioterapia, de modo que en la mayoría de los gatos se decide realizar eutanasia por la severidad de los signos clínicos (Wypij, 2013).

Los otros tres tipos de neoplasias orales observados no generaron problemas severos en los erizos afectados (4/21); en ningún caso se produjo una deformación facial. En cuanto al fibroma odontogénico periférico identificado en este estudio, presentó características similares a las descritas en felinos y caninos. En las tres especies se observa, macroscópicamente una morfología pedunculada o sésil (Stebbins *et al.*, 1989). Se ha descrito que se puede realizar una extracción quirúrgica y el riesgo de reaparición local es bajo (Wozniak-Biel *et al.*, 2015). Es importante indicar que el aspecto macroscópico de esta neoplasia dificulta la diferenciación visual con hiperplasia gingival, de modo que es necesario realizar el diagnóstico histopatológico. Respecto al sarcoma indiferenciado y hemangiosarcoma, ambos tumores no ocasionaron signos clínicos adicionales a la detección de la masa oral, de modo que al extraerlas quirúrgicamente las mascotas no presentaron alteraciones. No se puede descartar que estas neoplasias hayan generado metástasis que no hayan sido detectadas al examen físico, ya que no se les realizó exámenes complementarios de imagenología ni sanguíneos. Hasta el momento, no se han encontrado publicaciones científicas sobre hemangiosarcoma oral en erizos de tierra, de modo que este sería el primer caso que se tiene registro. En esta especie se habían descrito dos casos de hemangiosarcoma a nivel cutáneo, uno concomitante con un mastocitoma cutáneo y otro en la región femoral lateral derecha (Raymond y Garner, 2001; Finkelstein *et al.*, 2008). Este último caso se identificó como poco diferenciado y la neoplasia después de ser extirpada quirúrgicamente reapareció localmente generando déficit funcional, inapetencia y pérdida de peso. Al realizar la necropsia en el ejemplar afectado, se detectó metástasis en hígado, pulmones y riñones. El hemangiosarcoma se reporta

como una neoplasia maligna de muy rara presentación en cavidad oral; en perros hay 6 reportes de caso de este tumor en lengua, uno en encía maxilar y otro en la rama mandibular (Papadimitriou *et al.*, 2014).

Otras neoplasias orales descritas en erizos de tierra no fueron detectadas en este estudio, ello se podría asociar a la baja prevalencia de ellas. Se ha descrito un caso de fibrosarcoma oral que se extendía por el paladar duro afectando el seno nasal (Raymond y Garner, 2001). También se ha reportado un caso de osteosarcoma oral, el cual ocasionó daño óseo detectado a través de una microtomografía computarizada (micro-CT) (Lennox y Miwa, 2016). Estos casos fueron confirmados histológicamente y tenían características histopatológicas similares a las reportadas en otros animales domésticos.

En el estudio se detectaron algunas dificultades diagnósticas, una de ellas corresponde a la baja frecuencia de revisiones veterinarias de erizos mayores de 2 años. Se observó que durante el estudio, en algunos casos, en un periodo de 6 meses, el tumor oral puede desarrollarse sin que se generen signos clínicos que sean evidentes para el propietario (Risso, 2016). Se considera por ello, que acortando el tiempo entre revisiones veterinarias se podría hacer una detección temprana e intervenir. Asociado a la poca frecuencia de consulta veterinaria, ocurre que durante el examen clínico algunos dueños no desean que su mascota sea anestesiada para una exploración completa de la cavidad oral. Los propietarios manifiestan temor a la anestesia y evitan realizarla por el costo económico que ella implica (Risso, 2016). Ello dificulta la exploración de eventuales lesiones en cavidad oral. Dado el mal pronóstico de las neoplasias orales en esta especie, el clínico debería promover la realización de un examen oral exhaustivo bajo anestesia general.

De manera adicional a lo previamente señalado, en este trabajo se evidenció una baja tasa de muestreo histopatológico en respuesta a un aumento de tamaño en cavidad oral. Uno de las razones de lo anterior es que algunas masas orales fueron diagnosticadas a priori como un absceso local durante el examen clínico y ocasionalmente se rectificó el diagnóstico mediante citología. En general, cuando se trataba de un tumor oral, algunos dueños no deseaban enviar la masa

oral a análisis histopatológico debido al costo económico asociado. Ocasionalmente, algunos veterinarios evitaban obtener una biopsia de masas invasivas con crecimiento acelerado debido al mal pronóstico del paciente, ausencia de una terapia eficiente y efectos secundarios de la obtención de la biopsia, tales como hemorragia y dolor.

Con respecto a los biomarcadores estudiados, se observó un bajo índice proliferativo en las muestras estudiadas (14% para CCE, fibroma odontogénico (10%), sarcoma (4%)). La localización de la marca en las células neoplásicas del CCE con leve predominancia en el borde de las aglomeraciones de nidos o islas permite deducir que las células muestran mayor proliferación en su avance invasivo hacia el estroma. El no detectar una asociación estadísticamente significativa entre la expresión de Ki67 y CCE oral o hiperplasia gingival, se pudo haber generado porque en los casos de hiperplasia gingival había células epiteliales basales que se encontraban en proliferación. Adicionalmente, el bajo IP de Ki67 para el CCE oral se relaciona con el bajo número de mitosis que se observaron en la tinción HE. En otras especies, la elevada expresión de Ki67 en CCE oral se asocia a un mal pronóstico, como en humanos, mientras que en felinos se relaciona con una disminución en la supervivencia (Wypij, 2013). En el estudio de Bergkvist *et al.* (2011), en 67 gatos con CCE oral, el índice proliferativo mediano fue 54.6%, muy superior al detectado en los erizos de tierra estudiados. Gonzalez-Moles *et al.*, (2010) estableció que el CCE se desarrolla mediante una división asimétrica generando linajes para una diferenciación terminal, lo cual se considera un mecanismo de protección ante el desarrollo de eventos oncogénicos responsables de un mal pronóstico.

En cuanto al marcador VEGFR, es una proteína de tipo tirosina-quinasa ubicada en la membrana celular al igual que EGFR. En tumores malignos, el VEGF se une a VEGFR-2 induciendo neovascularización que conduce al crecimiento y metástasis tumoral, así como promoción de supervivencia celular mediante inhibición de la apoptosis (Mestre, 2016). La detección del VEGFR en elevada intensidad en CCE analizados aquí y su ubicación preferente en la parte central de nidos e islas de células neoplásicas, permite deducir el rol que está teniendo este receptor en el fomento de angiogénesis y proliferación del tejido neoplásico, debido

a su acción mitogénica (Neuchrist *et al.*, 2001; Guo *et al.*, 2010). La expresión de VEGFR se asoció significativamente con el tipo de lesión histológica de los casos estudiados (CCE oral en comparación con la hiperplasia gingival como control). La baja presentación del marcador en las otras neoplasias permite inferir un bajo nivel de angiogénesis y supervivencia celular en ellas. En humanos con CCE oral, la expresión de VEGFR-2 varía de un 16,7% en el estadio 1 a 7% en el estadio 4, según las etapas descritas por la Unión Internacional del Control del Cáncer (Pianka *et al.*, 2015). La mayor presencia de este marcador en CCE de erizos de tierra podría ser considerado como sustento para desarrollar potenciales terapias específicas contra esta neoplasia. Este hallazgo resulta altamente relevante para futuras intervenciones en erizos de tierra, sobre todo si se logra identificar el CCE oral en etapas iniciales.

En el caso del biomarcador EGFR se presumía que tendría una sobreexpresión en el CCE oral, pues ello ha sido descrito en otras especies domésticas (Bergkvist *et al.*, 2011). Sin embargo, dicho marcador no generó una marca positiva en ninguna de las neoplasias evaluadas en erizos de tierra ni en el control no neoplásico especie específico. La ausencia de expresión no necesariamente implica que en esta especie no se encuentre el antígeno específico (EGFR) sino que probablemente la proteína de transmembrana era diferente o el biomarcador no pudo detectarla. Es importante indicar que el control positivo, proveniente de carcinoma de células escamosas de perro, tuvo una marca intensa. Pese a las diversas modificaciones en la metodología de recuperación antigénica, no se obtuvo la marca esperada en los tejidos de la especie analizada.

Respecto a COX-2 se puede señalar que cumple un rol complejo relacionado con la inflamación. Asimismo, regula numerosos procesos biológicos que favorecen el desarrollo y crecimiento neoplásico. Se ha reportado una sobreexpresión en 77% de CCE de cabeza y cuello en humanos y un 67% en CCE oral en felinos (Wypij, 2013). En las neoplasias de erizos de tierra analizadas, el 71% expresó el mencionado biomarcador, 11 en 2-Allred y sólo una muestra presentó el máximo grado de la clasificación 3-Allred. Soslow *et al.* (2000) estableció que la expresión de COX-2 en epitelio no neoplásico adyacente al tumor sugiere un efecto paracrino que favorecería la acción de resistir la apoptosis,

promover la angiogénesis e impedir una adecuada respuesta inmune. Ello concuerda con la leve marca en el epitelio cercano a las células neoplásicas. Los casos de hiperplasia gingival, debido al proceso inflamatorio asociado, también presentaron expresión del marcador. A pesar que el COX-2 se encuentra liberado durante procesos inflamatorios se considera que en los tejidos analizados, la expresión del biomarcador se encontró relacionada a un proceso oncogénico.

Considerando que ya se encuentra bajo evaluación el potencial efecto terapéutico de inhibidores de COX-2 sobre el CCE oral detectados en diversas etapas (Doré, 2011), es posible que en una lesión pre-cancerígena o pre-invasiva intervenida tempranamente con un inhibidor de COX-2 se podría disminuir la progresión tumoral, ello pese a que el mecanismo oncogénico no se encuentra totalmente descrito (Soslow *et al.*, 2000; Martin *et al.*, 2015). Sería relevante establecer estudios donde se pueda determinar el alcance de la terapia con inhibidores de COX-2 para erizos de tierra.

Al realizar la evaluación de los tejidos neoplásicos (obtenidos mayoritariamente postmortem) caracterizados por la etapa avanzada en la que se encontraban los pacientes, se especula que la actividad de cada uno de los marcadores empleados estaría afectada por la temporalidad. En específico, en el caso del Ki67 en el epitelio pre-maligno el índice proliferativo debería ser mayor, ya que las células parabasales están creando nuevos clones, incluyendo algunos que favorecen la invasión, lo cual se asociaría a una etapa temprana de oncogénesis (Gonzalez-Moles *et al.*, 2010). Mientras que en etapas posteriores de crecimiento tumoral, la proliferación celular empieza a disminuir progresivamente debido a la heterogenicidad de las células neoplásicas, ello se podría ver reflejado en una disminución en el índice proliferativo. Se requiere realizar estudios adicionales a fin de tener certeza de esta elaboración.

Finalmente, se puede afirmar que entre las neoplasias detectadas en los erizos de tierra del presente estudio, el CCE oral tuvo una elevada presentación y su comportamiento maligno e invasivo fue corroborado mediante la IHQ con la sobreexpresión de los tres marcadores empleados que detectaban proliferación celular, angiogénesis, inhibición del sistema inmune, resistencia a la apoptosis, entre otros mecanismos que favorecían el crecimiento de la neoplasia oral.

## 8. CONCLUSIONES

- La mayoría de los tumores orales en erizos de tierra tuvieron características clínico-patológicas de alta malignidad manifestadas en un crecimiento invasivo, escasa diferenciación histológica y alta expresión de marcadores asociados a progresión neoplásica, especialmente de VEGFR2.
- La mayoría de los tumores orales en erizos de tierra fueron CCE y afectaron animales de edad avanzada (2 a 6,5 años) con deformidad facial como principal signo clínico.
- La mayoría de las masas orales, independiente de su origen histológico, fueron similares macroscópicamente en sus etapas iniciales, de modo que, se sugiere realizar un diagnóstico temprano mediante histopatología. Esto podría tener un impacto positivo en el manejo terapéutico de los pacientes.

## 8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AVMA, 2013. *AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2013 Edition*,
- BABA, A., CATOI, C., 2007. Tumors of the Alimentary System. In: *Comparative Oncology. The Publishing House of the Romanian Academy*: Bucharest. pp-787
- BALAN, R., SIMION, N., GIUȘCĂ, S.E., GRIGORAȘ, A., GHEUCĂ-SOLOVĂSTRU, L., GHEORGHITĂ, V., AMĂLINEI, C., CĂRUNTU, I.D., 2011. Immunohistochemical assessment of p16, COX-2 and EGFR in HPV-positive cervical squamous intraepithelial lesions. *Romanian Journal of Morphology and Embryology*, 52(4), 1187–1194.
- BÁNKFALVI, A., KRABORT, M., BUCHWALOW, I.B., VÉGH, A., FELSZEGHY, E., PIFFKÓ, J., 2002. Gains and losses of adhesion molecules (CD44, E-cadherin, and beta-catenin) during oral carcinogenesis and tumour progression. *Journal of Pathology*, 198(3), 343–351.
- BERGKVIST, G.T., ARGYLE, D.J., MORRISON, L., MACINTYRE, N., HAYES, A., YOOL, D.A., 2011. Expression of epidermal growth factor receptor (EGFR) and Ki67 in feline oral squamous cell carcinomas (FO SCC). *Veterinary and Comparative Oncology*, 9(2), 106–117.
- CHAPRAZOV, T., DIMITROV, R., YOVCHEVA, K.S., UZUNOVA, K., 2013. Oral and dental disorders in pet hedgehogs. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 38(1), 1–6.
- COUTURE, E.L., LANGLOIS, I., SANTAMARIA-BOUVIER, A., BENOID-BIANCAMANO, M.-O., 2015. Cutaneous Squamous Cell Carcinoma in an African Pygmy Hedgehog (*Atelerix albiventris*). *Cancer Veterinary Journal*, 56, 1275–1278.
- DENNIS, M.M., MCSPORRAN, K.D., BACON, N.J., SCHULMAN, F.Y., FOSTER, R.A., POWERS, B.E., 2011. Prognostic Factors for Cutaneous and Subcutaneous Soft Tissue Sarcomas in Dogs. *Veterinary Pathology*, 48(1), 73–84.
- DIBERNARDI, L., DORÉ, M., DAVIS, J.A., OWENS, J.G., MOHAMMED, S.I., GUPTILL, C.F., KNAPP, D.W., 2007. Study of feline oral squamous cell carcinoma: Potential target for cyclooxygenase inhibitor treatment. *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 76(4), 245–250.
- DICKSON, B.C., MULLIGAN, A.M., ZHANG, H., LOCKWOOD, G., O'MALLEY, F.P., EGAN, S.E., REEDIJK, M., 2007. High-level JAG1 mRNA and protein predict poor outcome in breast cancer. *Modern pathology*, 20(6), 685–93.
- DORÉ, M., 2011. Cyclooxygenase-2 expression in animal cancers. *Veterinary pathology*, 48(1), 254–265.
- DOSHI, N., SHAH, S., PATEL, K.B., MUNIRA, J., 2011. Histological Grading of Oral Cancer: a Comparison of Different Systems and Their Relation To Lymph Node Metastasis. *National Journal of Community Medicine*, 2(1), 136–142.

- DUTRA, A., AZEVEDO JUNIOR, G., SCHMITT, F., CASSALI, G.**, 2008. Assessment of cell proliferation and prognostic factors in canine mammary gland tumors [ *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec*, 60(6), 1403–1412.
- FINKELSTEIN, A., HOOVER, J.P., CAUDELL, D., CONFER, A.W.**, 2008. Cutaneous Epithelioid Variant Hemangiosarcoma in a Captive African Hedgehog (*Atelerix albiventris*). *Journal of Exotic Pet Medicine*, 17(1), 49–53.
- FRYE, F.L., DUTRA, F.R.**, 1973. Squamous Cell Carcinoma of the feet of an Indian Hedgehog. *Journal of Wildlife Diseases*, 9, 249–250.
- FULTON, A.J., NEMEC, A., MURPHY, B.G., KASS, P.H., VERSTRAETE, F.J.M.**, 2013. Risk factors associated with survival in dogs with nontonsillar oral squamous cell carcinoma 31 cases (1990–2010). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 243(5), 696–702.
- GAL, J., LANDAUER, K., PALADE, E.A., IVASKEVICS, K., RUSVAI, M., DEMETER, Z.**, 2009. Squamous cell carcinoma and consequent otitis in a long-eared hedgehog (*Hemiechinus auritus*). *Acta Veterinaria Hungarica*, 57(1), 69–73.
- GARDHOUSE, S., ESHAR, D.**, 2015. Retrospective study of disease occurrence in captive African pygmy hedgehogs (*Atelerix albiventris*). *Israel Journal of Veterinary Medicine*, 70(1), 32–36.
- GELBERG, H.**, 2007. Alimentary System. In: M. McGavin & J. Zachary, (Eds). *Pathologic Basis of Veterinary Disease*. 4ta ed. Mosby: Missouri. pp. 253-298.
- GONZALEZ-MOLES, M.A., RUIZ-AVILA, I., GIL-MONTOYA, J.A., ESTEBAN, F., BRAVO, M.**, 2010. Analysis of Ki-67 expression in oral squamous cell carcinoma: Why Ki-67 is not a prognostic indicator. *Oral Oncology*, 46(7), 525–530.
- GREENACRE, C.B.**, 2004. Spontaneous tumors of small mammals. *Veterinary Clinics of North America - Exotic Animal Practice*, 7(3), 627–651.
- GUO, S., COLBERT, L., FULLER, M., ZHANG, Y., GONZALEZ-PEREZ, R.R.**, 2010. Vascular Endothelial Growth Factor Receptor -2 in breast cancer. *Biochimica et Biophysica Acta*, (1806), 108–121.
- GUZMÁN, E.**, 2016. [Comunicación Personal]. Propietaria de Tus Mascotas, Criadero de Erizos de tierra.
- HARASYMCZUK, M., GOODING, W., KRUK-ZAGAJEWSKA, A., WOJTOWICZ, J., DWORACKI, G., TOMCZACK, H., SZYFTER, W., WHITESIDE, T.**, 2013. Head and neck squamous carcinomas with exophytic and endophytic type of growth have the same prognosis after surgery and adjuvant radiotherapy. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*, 3(270).
- HAYES, A.M., ADAMS, V.J., SCASE, T.J., MURPHY, S.**, 2007. Survival of 54 cats with oral squamous cell carcinoma in United Kingdom general practice: Paper. *Journal of Small Animal Practice*, 48(7), 394–399.
- HEATLEY, J.J., MAULDIN, G.E., CHO, D.Y.**, 2005. A review of neoplasia in the captive African hedgehog (*Atelerix albiventris*). *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine*, 14(3), 182–192.



- INAN, S., VATANSEVER, S., SANCI, M., DICLE, N., DEMIR, R.,** 2006. Immunolocalizations of VEGF, its receptors flt-1, KDR and TGF- $\beta$ 's in epithelial ovarian tumors. *Histology and Histopathology*, 21, 1055–1064.
- IVEY, E., CARPENTER, J.W.,** 2012. African Hedgehogs. In: J. W. Carpenter & K. E. Quesenberry, (Eds). *Ferrets, Rabbits and Rodents: Clinical Medicine and Surgery*. 3ra ed. Elsevier Ltd: Missouri, pp. 411–427.
- JUAN-SALLÉS, C., GARNER, M.M.,** 2007. Cytologic Diagnosis of Diseases of Hedgehogs. *Veterinary Clinics of North America - Exotic Animal Practice*, 10(1), 51–59.
- KUSEWITT, D., RUSH, L.,** 2007. Neoplasia and Tumor Biology. In: M. McGavin & J. Zachary, (Eds). *Pathologic Basis of Veterinary Disease*. 4ta ed. Mosby: Missouri. pp. 253-298
- LEE, T., IHRK E, P., WALDER, E., AFFOLTER, V.,** 2005. Epidermal Tumors - Neoplasms and Other Tumors. In: *Skin Diseases in the Dog and Cat, Clinical and Histopathologic Diagnosis*. 2da ed. Blackwell, p. 932.
- LENNOX, A.M., MIWA, Y.,** 2016. Anatomy and Disorders of the Oral Cavity of Miscellaneous Exotic Companion Mammals. *Veterinary Clinics of North America - Exotic Animal Practice*, 19(3), 929–945.
- LIPTAK, J.M., WITHROW, S.J.,** 2013. Cancer of the Gastrointestinal Tract. Oral Tumors. In: S. J. Withrow, D. M. Vail, & R. L. Page, (Eds). *Withrow and Macewen's Small Clinical Oncology*. 5ta ed. Elsevier Ltd: Missouri, pp. 381–431.
- MARTIN, C.K., DIRKSEN, W.P., CARLTON, M.M., LANIGAN, L.G., PILLAI, S.P., WERBECK, J.L., SIMMONS, J.K., HILDRETH, B.E., LONDON, C.A., TORIBIO, R.E., ROSOL, T.J.,** 2015. Combined zoledronic acid and meloxicam reduced bone loss and tumour growth in an orthotopic mouse model of bone-invasive oral squamous cell carcinoma. *Veterinary and Comparative Oncology*, 13(3), 203–217.
- MARTIN, C.K., TANNEHILL-GREGG, S.H., WOLFE, T.D., ROSOL, T.J.,** 2011. Bone-invasive oral squamous cell carcinoma in cats: pathology and expression of parathyroid hormone-related protein. *Veterinary pathology*, 48(1), 302–12.
- MARTINEZ, L.S., JUAN-SALLES, C., CUCCHI-STEFANONI, K., GARNER, M.M.,** 2005. *Actinomyces naeslundii* infection in an African hedgehog (*Atelerix albiventris*) with mandibular osteomyelitis and cellulitis. *The Veterinary record*, 157(15), 450–451.
- MAULDIN, E.A., PETERS-KENNEDY, J.,** 2016. Intergumentary System. In: G. M. Maxie, (Eds). *Jubb, Kennedy and Palmer's Pathology of Domestic Animals Vol. I*. Elsevier Ltd: Missouri, pp. 509–736.
- MAZIÈRES, J., BRUGGER, W., CAPPUZZO, F., MIDDEL, P., FROSCH, A., BARA, I., KLINGELSCHMITT, G., KLUGHAMMER, B.,** 2013. Evaluation of EGFR protein expression by immunohistochemistry using H-score and the magnification rule: Re-analysis of the SATURN study. *Lung Cancer*, 82(2), 231–237.

- MEIER, H., ARMBRUST, L., BILLER, D., ISAZA, R., FLEMING, G.,** 2001. Meier, 2001. An oral mass in an African hedgehog - *VetMed(96)280. Veterinary Medicine, (96), 280–282.*
- MESTRE, F.J.,** 2016. *Papel Pronóstico de la Expresión de COX-2 en la célula de Reed-Sternberg del Linfoma de Hodgkin.* Universidad Autónoma de Barcelona.
- MOHAMMAD, S., RAM, H., GUPTA, P.N., HUSAIN, N., BHATT, M.L.B.,** 2011. Overexpression of COX-2 in oral squamous cell carcinoma patients undergoing chemoradiotherapy. *National journal of maxillofacial surgery, 2(1), 17–21.*
- NEMEC, A., MURPHY, B., KASS, P.H., VERSTRAETE, F.J.M.,** 2012. Histological Subtypes of Oral Non-tonsillar Squamous Cell Carcinoma in Dogs. *Journal of Comparative Pathology, 147(2–3), 111–120.*
- NEUCHRIST, C., EROVIC, B.M., HANDISURYA, A., STEINER, G.E., ROCKWELL, P., GEDLICKA, C., BURIAN, M.,** 2001. Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 2 ( VEGFR2 ) Expression in Squamous Cell Carcinomas of the Head and Neck. , (October), 1834–1841.
- PAPADIMITRIOU, S.A., ANATOLITOU, A., BRELLOU, G., KOUKI, M.I., VLEMMAS, I.,** 2014. Gingival Hemangiosarcoma of the Left Mandible in a Dog. *Journal of Veterinary Science & Medicine, 2(1), 2–5.*
- PEAUROI, J.R., LOWENSTINE, L.J., MUNN, R.J., WILSON, D.W.,** 1994. Multicentric Skeletal Sarcomas Associated with Probable Retrovirus Particles in Two African Hedgehogs (*Atelerix albiventris*). *Veterinary Pathology, 31(4), 481–484.*
- PEI-CHI, H., JANE-FANG, Y., LIH-CHIANN, W.,** 2015. A retrospective study of the medical status on 63 african hedgehogs (*Atelerix albiventris*) at the taipei zoo from 2003 to 2011. *Journal of Exotic Pet Medicine, 24(1), 105–111.*
- PIANKA, A., KNÖSEL, T., PROBST, F.A., TROELTZSCH, M., WOODLOOK, T., OTTO, S., EBRENFELD, M., TROELTZSCH, M.,** 2015. Vascular Endothelial Growth Factor Receptor Isoforms: Are They Present in Oral Squamous Cell Carcinoma? Vascular Endothelial Growth Factor Receptor Isoforms: Are They Present in Oral Squamous Cell Carcinoma? *Journal of Oral Maxillofacial Surgery, 73(5), 897–904.*
- RAMOS-VARA, J.A., MILLER, M.A.,** 2014. When tissue antigens and antibodies get along: revisiting the technical aspects of immunohistochemistry--the red, brown, and blue technique. *Veterinary pathology, 51(1), 42–87.*
- RAMOS-VARA, J. A, BEISSENHERZ, M.E.,** 2000. Optimization of immunohistochemical methods using two different antigen retrieval methods on formalin-fixed paraffin-embedded tissues: experience with 63 markers. *Journal of veterinary diagnostic investigation: official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc, 12(4), 307–311.*
- RAYMOND, J.T., GARNER, M.M.,** 2001. Spontaneous tumours in captive African hedgehogs (*Atelerix albiventris*): A retrospective study. *Journal of Comparative Pathology, 124(2–3), 128–133.*

- REID, M.D., BAGCI, P., OHIKE, N., SAKA, B., SEVEN, I.E., DURSUN, N., BALCI, S., GUCER, H., JANG, K., TAJIRI, T.**, 2014. Calculation of the Ki67 index in pancreatic neuroendocrine tumors: a comparative analysis of four counting methodologies. , 28(5), 686–694.
- RISSE, S.**, 2016. [Comunicación Personal] Médico Veterinario del Hospital Clínico Veterinario SOS Buin Zoo.
- RIVERA, R.Y., JANOVITZ, E.B.**, 1992. Oronasal squamous cell carcinoma in an African hedgehog (*Erinaceidae albiventris*). *Journal of Wildlife Diseases*, 28(1), 148–150.
- SOSLOW, R.A., DANNENBERG, A.J., RUSH, D., WOERNER, B.M., KHAN, K.N., KOKI, A.T., PH, D.**, 2000. COX-2 Is Expressed in Human Pulmonary , Colonic , and Mammary Tumors. *American Cancer Society*, 89(12), 2637–2645.
- STEBBINS, K.E., MORSE, C.C., GOLDSCHMIDT, M.H.**, 1989. Feline Oral Neoplasia: A Ten-Year Survey. *Veterinary Pathology*, 26(2), 121–128.
- TAKES, R.P.**, 2004. Staging of the neck in patients with head and neck squamous cell cancer: Imaging techniques and biomarkers. *Oral Oncology*, 40(7), 656–667.
- UZAL, F.A., PLATTNER, B.L., HOSTETTER, J.M.**, 2016. Alimentary System. In: M. G. Maxie, (Eds.) *Jubb, Kennedy and Palmer's Pathology of Domestic Animals Vol. II*. Elsevier Ltd: Missouri, pp. 1–257.
- WOZNIAK-BIEL, A., JANECEK, M., JANUS, I., NOWAK, M.**, 2015. Surgical resection of peripheral odontogenic fibromas in African pygmy hedgehog (*Atelerix albiventris*): a case study. *BMC veterinary research*, 11, 145.
- WYPIJ, J.M.**, 2013. A Naturally Occurring Feline Model of Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *Pathology Research International*, 2013(1), 1-7

# ANEXO 1

## CONSENTIMIENTO INFORMADO

### CARACTERIZACIÓN CLÍNICO PATOLÓGICA DE LESIONES TUMORALES EN CAVIDAD ORAL DE ERIZOS DE TIERRA (*Atelerix albiventris*)

Nombre del Investigador principal: **Gabriela Del Aguila Herrera**  
Institución: **Departamentos de Ciencias Clínicas/ Patología Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile**  
Teléfonos: 29785612 - 29785541

Le estamos invitando a participar en el proyecto de tesis de Magíster “Caracterización clínico-patológica de lesiones tumorales en cavidad oral de erizos de tierra (*Atelerix albiventris*)”

**Objetivo:** El objetivo general de este estudio es caracterizar tumores orales que presentan erizos de tierra, para determinar el tipo de neoplasia y poder establecer su pronóstico. El estudio incluirá, aproximadamente, 25 erizos de tierra (*Atelerix albiventris*) de diversas clínicas veterinarias que atiendan mascotas exóticas.

**Procedimientos:** Si usted acepta participar, luego de realizar un examen clínico completo a su mascota, se obtendrán dos biopsias incisionales (muestras de tejido tumoral de diámetro aproximado de 3mm). El procedimiento se realizará bajo anestesia general inhalatoria (isoflurano). La anestesia general inhalatoria conlleva un riesgo menor de originar lesiones agudas, secuelas crónicas, complicaciones anestésicas graves y en raras ocasiones la muerte.

Si su mascota se encuentra en condiciones de elevado deterioro corporal, bajo su autorización, se sugerirá un protocolo de eutanasia que consiste en aplicar una dosis anestésica con isoflurano al 5% y posterior administración de solución de eutanasia T-61 intracardiaca. Las biopsias serán obtenidas después del deceso de la mascota.

El tejido obtenido será empleado para estudios histopatológicos que permitan establecer el diagnóstico específico de la lesión que presentaba su erizo de tierra. Las muestras preparadas para los cortes histológicos se mantendrán en el Departamento de Patología de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile.

**Riesgos:** La participación de su mascota en este estudio no le debería generar mayores riesgos si durante el examen clínico no se detecta alguna alteración importante como de coagulación. Sin embargo, existe un riesgo mínimo que en algunos erizos de tierra se presenten inconvenientes derivados de las biopsias incisionales. Dichos inconvenientes podrían ser los siguientes: decaimiento, inapetencia, leve dolor o hematoma en la zona de la boca, entre otros. Es importante mencionar que adicionalmente al proceso anestésico, se administrará analgesia para minimizar el dolor asociado a la toma de muestras.

**Costos:** El estudio histopatológico que se realizará con las muestras de cavidad oral obtenidas de su mascota no tendrá costo para usted. No obstante, los costos derivados del procedimiento anestésico si deberán ser cubiertos por usted.

**Beneficios:** La participación en este estudio aportará al conocimiento sobre lesiones tumorales en cavidad oral que presentan los erizos de tierra. La información obtenida permitirá sentar las bases para llevar a cabo futuros estudios clínicos, que ayudarán a explorar nuevas alternativas de tratamiento para el cáncer de boca en erizos de tierra. No hay beneficios directos para la mascota que se someta a la toma de muestra. Finalmente, usted podrá acceder al resultado histopatológico de la masa oral de su mascota.

**Compensación:** Usted no recibirá ninguna compensación económica por su participación en el estudio.

**Confidencialidad:** Toda la información derivada de su participación en este estudio será tratada con estricta privacidad, lo que incluye el acceso de los investigadores o agencias supervisoras de la investigación. Cualquier publicación o comunicación científica de los resultados de la investigación será completamente anónima.

**Voluntariedad:** Su participación en esta investigación es totalmente voluntaria. Adicionalmente, Usted puede rehusar participar y cambiar de opinión después que ha aceptado donar las muestras de cavidad oral de su mascota, sin que eso afecte la calidad de la atención que reciba su erizo de tierra.

**Complicaciones:** La obtención de las muestras en cavidad oral de su mascota no interfiere con la atención habitual que se entregará.

**Derechos del participante:** Si usted requiere cualquier otra información sobre su participación en este estudio puede comunicarse con:

Investigador:

- Gabriela Del Aguila Herrera, [gabydelaguila@gmail.com](mailto:gabydelaguila@gmail.com)

Autoridad de la Institución:

- Dr. Cristian Torres Mendoza, Profesor de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile. En el teléfono 2978 5516 o al correo electrónico [ctorres@uchile.cl](mailto:ctorres@uchile.cl)
- Dr. Federico Cifuentes Ramos, Profesor de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile. En el teléfono 2978 5511 o al correo electrónico [federico.cifuentes@uchile.cl](mailto:federico.cifuentes@uchile.cl)

Comité de Bioética:

- Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile

**Conclusión:**

Después de haber recibido y comprendido la información de este documento y de haber podido aclarar todas mis dudas, otorgo mi consentimiento para participar en el estudio **“Caracterización clínico-patológica de lesiones tumorales en cavidad oral de erizos de tierra (*Atelerix albiventris*)”**

\_\_\_\_\_  
Nombre del Propietario

\_\_\_\_\_  
Firma

\_\_\_\_\_  
Fecha

\_\_\_\_\_  
Nombre del Investigador

\_\_\_\_\_  
Firma

\_\_\_\_\_  
Fecha

Este formulario de “Consentimiento informado” se firmará en triplicado para que los donantes, el investigador responsable y Comité de Ética tengan las copias correspondientes.

## ANEXO 2



UNIVERSIDAD DE CHILE  
Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias  
Comité de Bioética Animal


Santiago, 30 de noviembre de 2016

### CERTIFICADO N° 17-2016

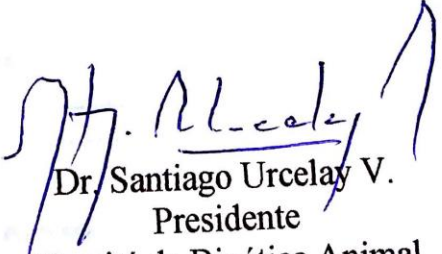
En relación con los procedimientos propuestos para el uso de animales experimentales, y teniendo a la vista la metodología del Proyecto: **“Caracterización clínico patológica de lesiones tumorales en cavidad oral de erizos de tierra (*Ateles albiventris*)”**. Este comité entiende que dicho proyecto será ejecutado por **Srita. Gabriela Del Aguila H.** estudiante dirigida por el **Dr. Cristian Torres**.

De acuerdo a los detalles contenidos en el Formulario para obtención de certificado de Comité de Bioética de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile, este Comité certifica que el Proyecto satisface lo estipulado en la guía de principios directrices internacionales para el uso de animales en investigación biomédica, elaborada por el Consejo para las Organizaciones Internacionales de las Ciencias Biomédicas, adecuada y adoptada por este Comité, y se ajusta a la legislación chilena vigente sobre la materia, incluida la Norma NCh 324-2011.

A este respecto el Comité entiende que todos los ensayos se llevarán a cabo con biopsias obtenidas de erizos de tierra, previo consentimiento de sus dueños. Las biopsias serán realizadas entre octubre de 2016, y junio de 2017.

  
Dra. Tamara Tadich  
Director  
Comité de Bioética Animal



  
Dr. Santiago Urcelay V.  
Presidente  
Comité de Bioética Animal