

Tumores mamarios caninos: prevalencia, etiopatogenia

Hormonas

Ciclo celular

Oncogenes

Genes supresores de tumor

Factores de crecimiento

Cadherinas

Metaloproteinasas

Angiogenesis

Telomerasa

Sistema inmune

Generalidades

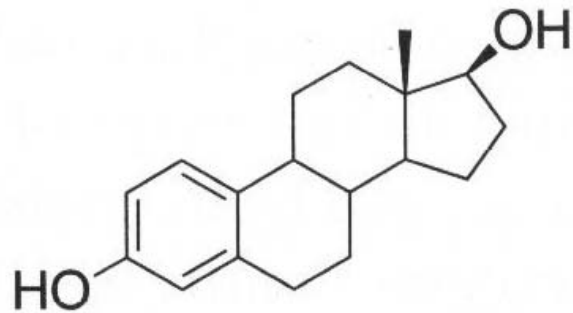
- 4 - 6 pares de mamas.
Son glándulas cutáneas modificadas (tubuloalveolares compuestas).
- Edad promedio: 10 años (Van Garder, 1997).
- Riesgo para tumores de mama malignos en machos: menos del 1 %.
- Riesgo aumenta con el uso de progestinas (Frank y col., 1979; Misdorp, 1988; Donnay, *et al.*, 1994; Rutteman, 1990; Selman, 1994).

Factores de riesgo:

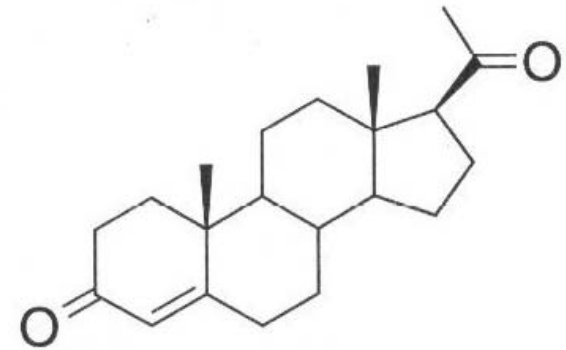
- Ovariectomía: Disminuye el riesgo (0,5 % - 8 % - 26 %) (Loar, 1989; Misdorp, 1988).
- Genéticos - BCRA I y II, (Nieto *et al.*, 2003; Tuchida *et al.*, 2001).
- Pseudopreñez (Donnay, *et al.*, 1994; Murrel, 1991; Rutteman, 1990; Selman, 1994)).
- Dieta:
Obesidad y dieta rica en grasas (Kitchell, 1995; Sonnenschein, 1991).
- Radiaciones ionizantes.

HORMONAS

Fórmulas de los esteroides sexuales naturales:



17- β estradiol (**ER**)



progesterone (**PR**)

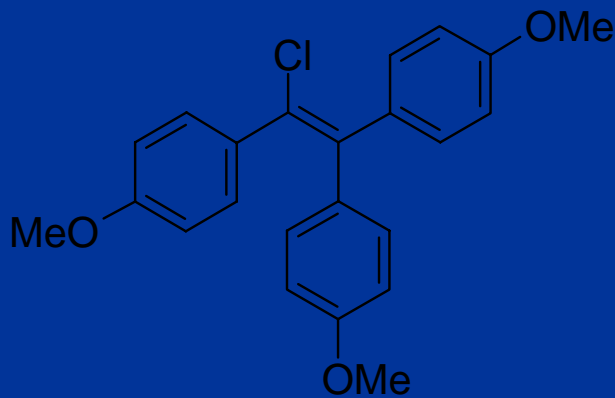
Estrogenos sinteticos



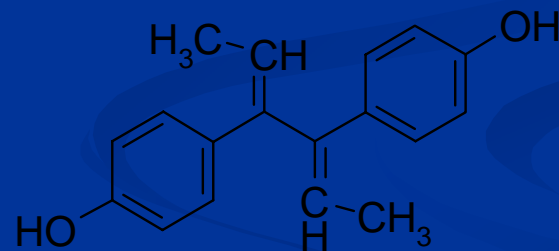
ethinyl-estradiol



diethylstilbestrol



chlorotrianisene



dienestrol

•Estradiol **—————→** **Crecimiento ductal**

•Progesterona
•Acetato de clormadinona **—————→** **Desarrollo lobulo-**
(CMA) **alveolar / Hiperplasia**
•Acetato de medroxiprogesterona
(MPA) **mioepitelial**

**•19-Nortestosterona * 125 dosis produce TMC en el 40 %
de los animales.**



Acciones fisiológicas de los esteroides sexuales (estrógenos, progestágenos y andrógenos):

Desarrollo y diferenciación del sistema reproductivo embrionario, masculinización o femeneización en el nacimiento. Control de la reproducción y comportamiento reproductivo. Desarrollo de los caracteres sexuales secundarios.

Receptores de Esteroides:

Están organizados en dominios funcionales:

- **Sitio de unión a la H (HBD) que presenta un bolsillo hidrofóbico.**
- **Sitio de unión al ADN (DBD) distinto del HBD.**
- **Afinidad aumentada por el núcleo en presencia de H.**

(Los Receptores de Esteroides son Factores de Transcripción regulados por esteroides)

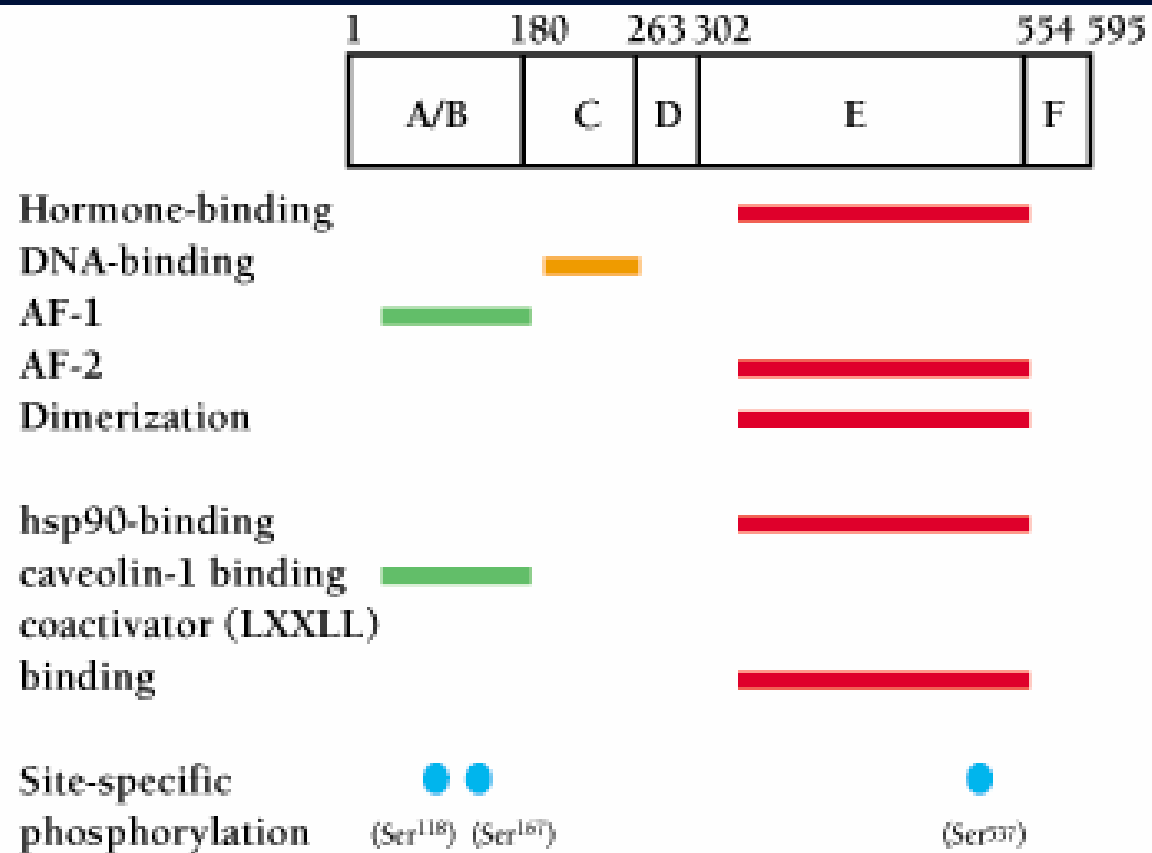
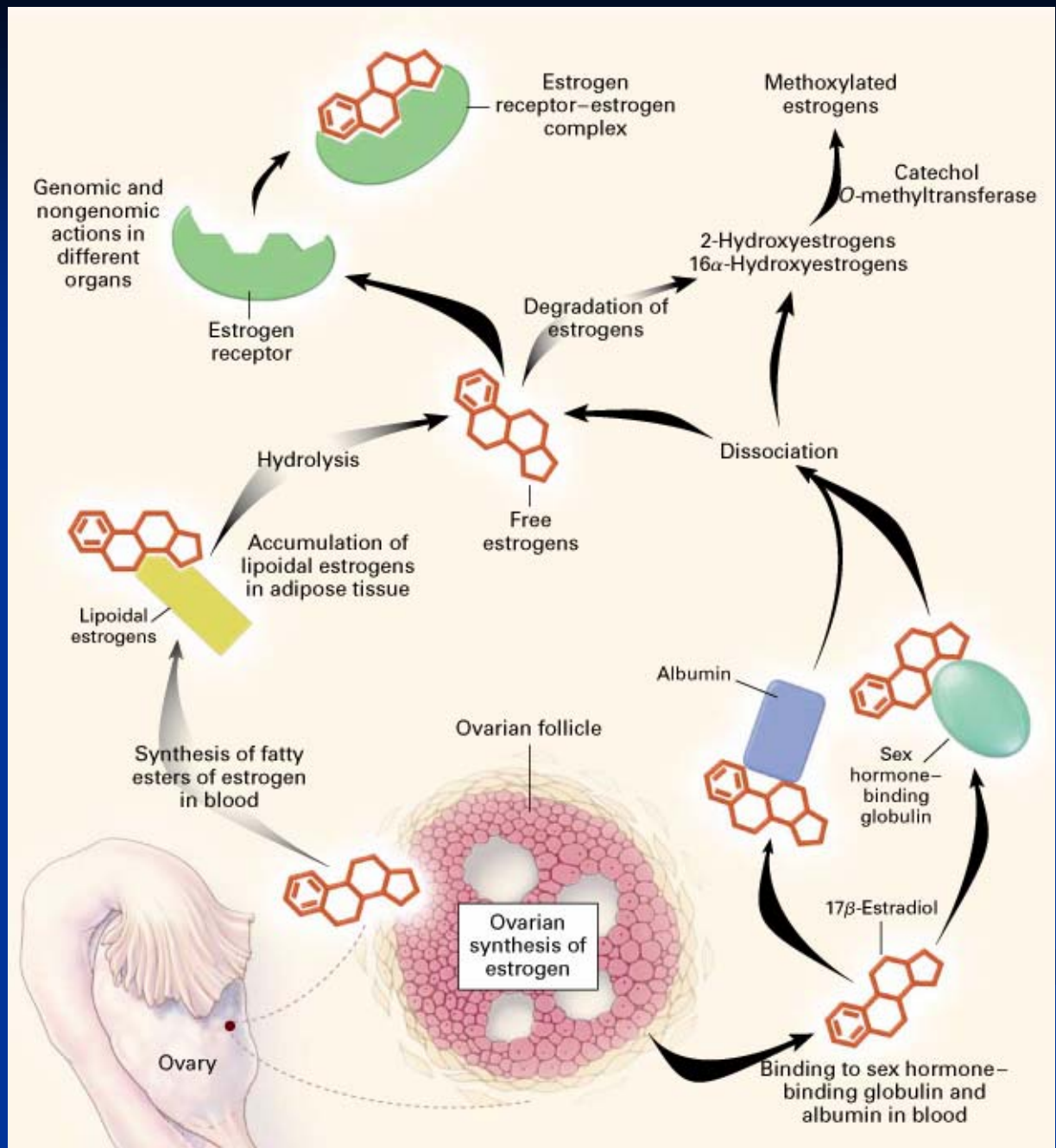


Figure 1. Functional regions of the human estrogen receptor α (ER α). These domains include a ligand-independent transactivation function domain (AF-1), DNA-binding domain, hormone-binding domain and ligand-dependent transactivation function domain (AF-2). Putative regions of interaction with other proteins and sites of phosphorylation by various kinases are also shown.

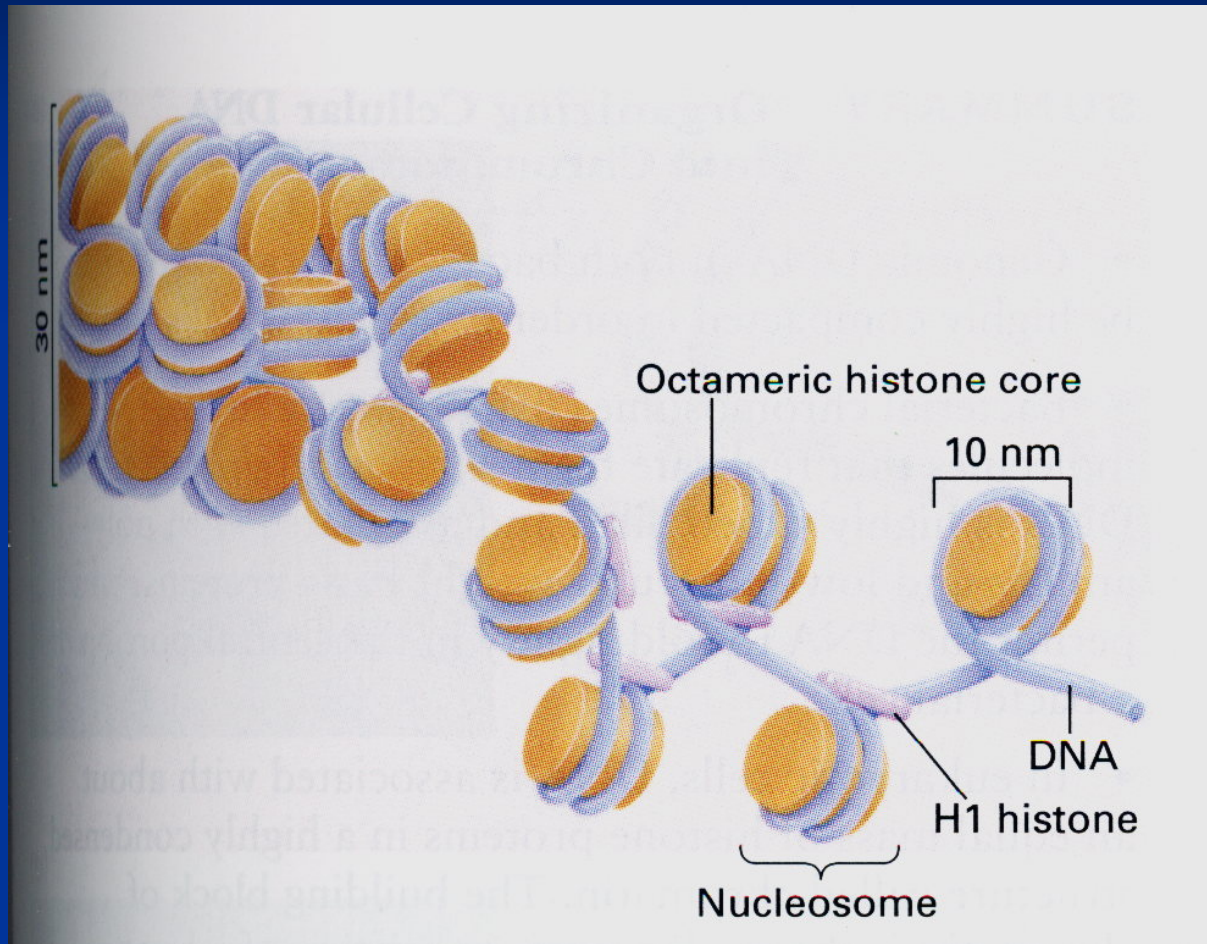
Tomado de: Ho KJ &
Liao JK. Molecular
Interventions 2 (4): 219-
228, 2004.

Mecanismo de acción hormonal:

Tomado de: Gruber CJ, Tschugguel W, Schneeberger C, Huber JC. *New Engl. J. Medicine* 346:340-352, 2002.

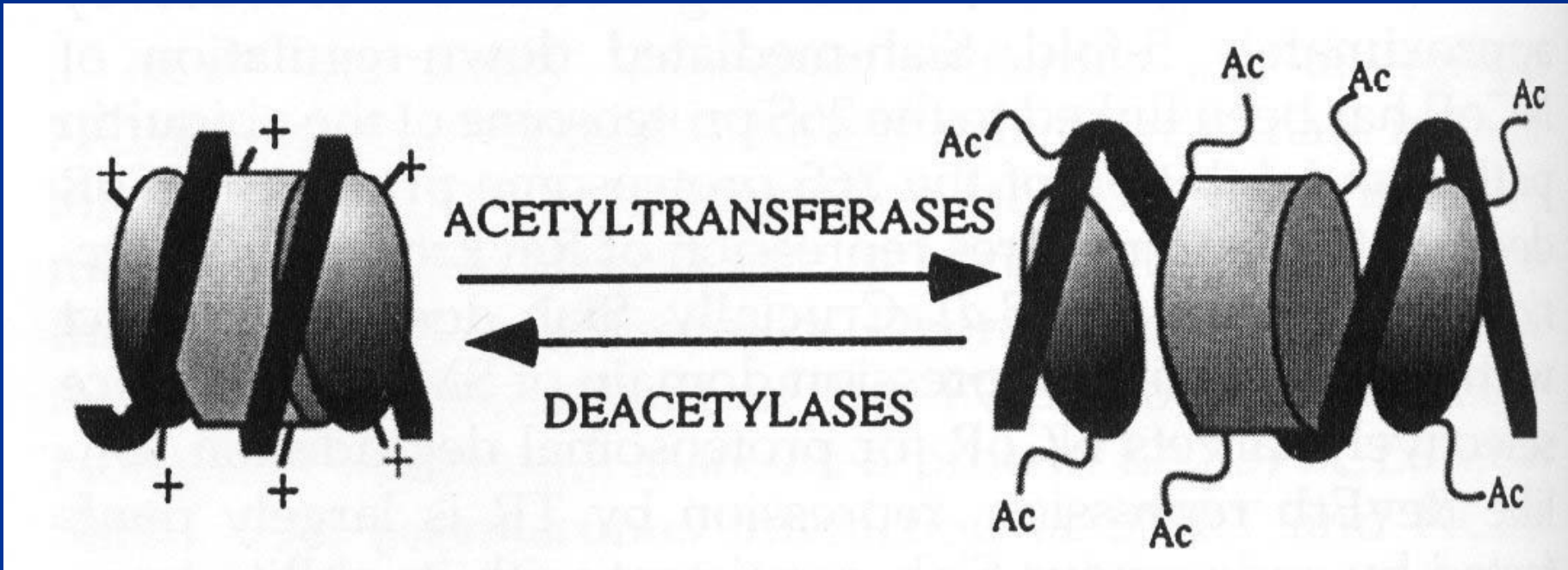


Nucleosoma:



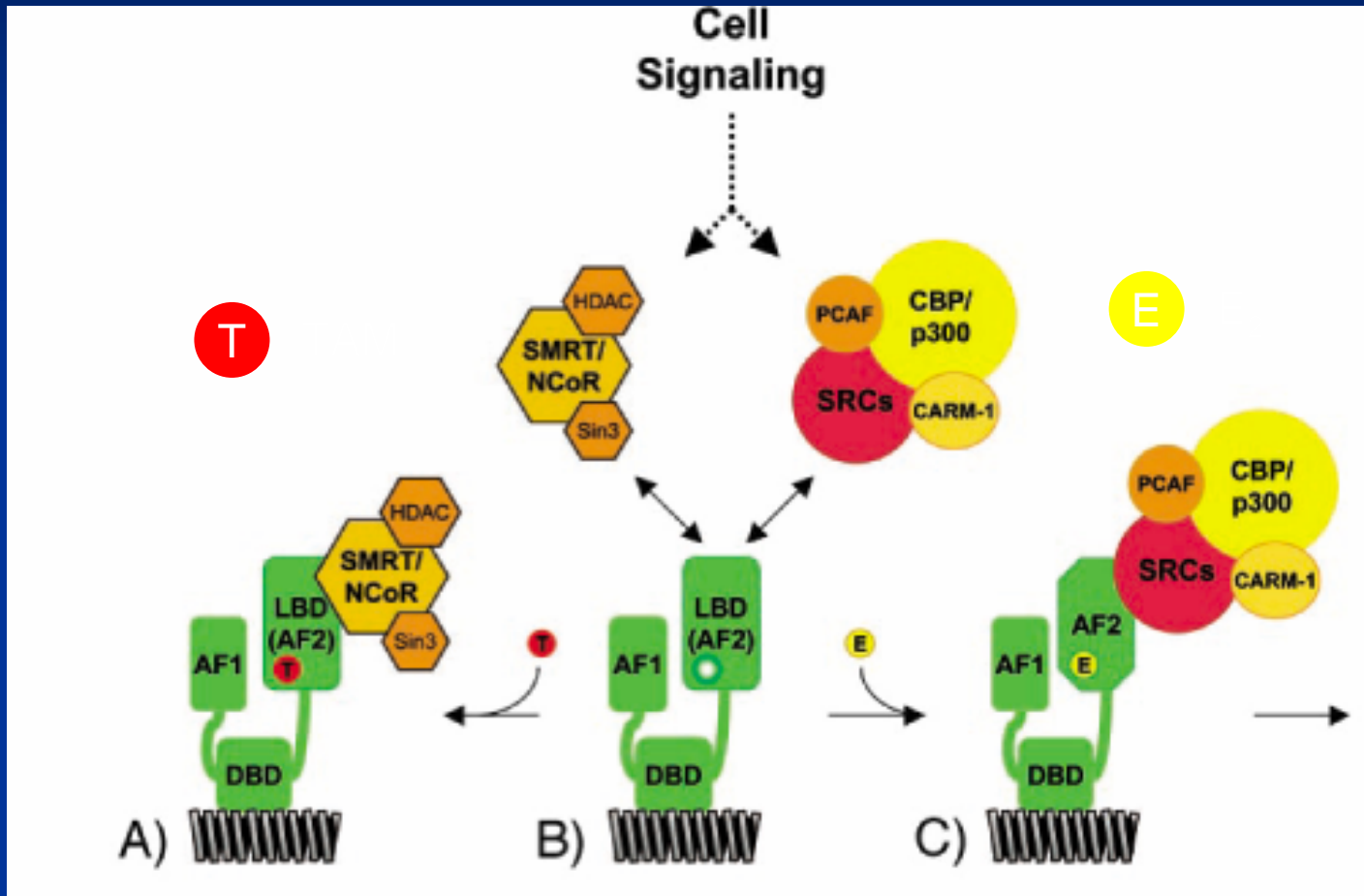
Tomado de: **Molecular Cell Biology. Lodish, Berk, Zipursky, y col (ed), 2001.**

Modelo de acetilación y deacetilación de Histonas:



Tomado de: McKenna NJ, Lanz RB, O'Malley RW. Endocr. Rev. 20: 321-344, 1999.

Coactivadores de Rec. Esteroides



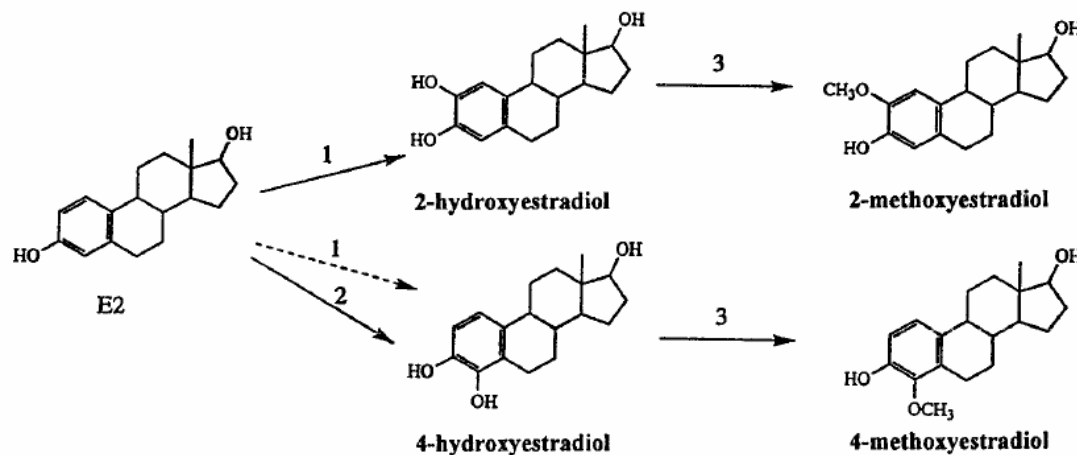
Tomado de: Smith CL, O'Malley BW. Endoc. Rev. 25: 45-71, 2004.

Is Estradiol a Genotoxic Mutagenic Carcinogen?*

JOACHIM G. LIEHR

The Stehlin Foundation for Cancer Research, Houston, Texas 77003

FIG. 1. Metabolic conversion of E_2 to catecholestrogens. Hepatic cytochrome P450 3A and extrahepatic cytochrome P450 1A enzymes [1] convert E_2 mainly to 2-hydroxyestradiol and approximately 15%–20% 4-hydroxyestradiol (127–130). Cytochrome P450 1B [2] of uterus, mammary gland, testis and other tissue converts E_2 mainly to 4-hydroxyestradiol (131). These catechol metabolites are methylated by catechol-*O*-methyltransferase [3] to corresponding methoxyestrogens.



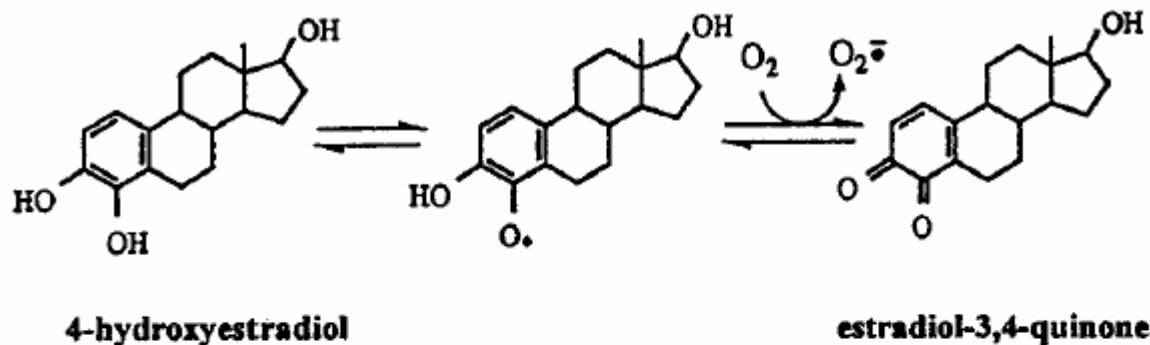


FIG. 2. Metabolic redox cycling of catecholestrogens. 4-Hydroxyestradiol (as shown) is capable of metabolic redox cycling between quinone and hydroquinone (catechol) forms. Catechols are oxidized by organic hydroperoxide-dependent cytochrome P450 1A enzymes or other peroxidases, whereas quinones are reduced by NADPH-dependent cytochrome P450 reductase or NADH-dependent cytochrome b_5 reductase (140). Both oxidation and reduction proceed via the semiquinone intermediate, which may react with molecular oxygen and form superoxide anion (141). 2-Hydroxyestradiol or other catecholestrogens (not shown) may undergo metabolic redox cycling in an analogous manner.

TABLE 2. E₂-induced genetic mutations

Type of genetic mutation	Test system (ref.)
Numerical chromosomal aberrations (aneuploidy)	Syrian hamster embryo cells (81, 85, 176) Human fibroblasts (183) Syrian hamster kidney (177, 178)
Structural chromosomal aberrations	Mouse genital tract (181, 182) Syrian hamster kidney (177, 178)
Gene mutations	gpt Transgene, Chinese hamster G12 cells (185, 186) hprt Gene, Chinese hamster V79 cells (55) Methotrexate resistance gene, MCF-7 human breast cancer cells (188) <i>c-myc</i> Gene, hamster kidney tumors (95)
Gene amplification	
Microsatellite instability	Syrian hamster kidney (189)

Son los estrógenos genotóxicos?

- ⇒ El estradiol por sí mismo no es genotóxico.**
- ⇒ Sin embargo, se metaboliza en diferentes compuestos, semiquinonas y quinonas.**
- ⇒ Algunos de estos metabolitos pueden formar “aductos”, enlaces que conducen a cambios de adenina por timidina en el ADN.**

Metabolismo de estrógenos

- ⇒ En muestras de CaMa humano más del 80% de los estrógenos estaban hidroxilados.
- ⇒ Se describió en estas muestras un gran aumento tanto de 2OH y 4OH como de 16OH.

ER y PR en tumores de mama canino

- ER+ PR+
- ER+ PR-
- ER- PR+
- ER- PR-

Similares niveles de la expresión de R- Prolactina se observaron en TMC (Rutteman y col. 1996).

ER y PR en tumores de mama canino

- Aproximadamente el 80% de los tumores mamarios caninos expresan ER, PR o ambos (Donnay y col. 1995).
- La expresión de ER fue mas alta en tumores de mama de perras enteras, en hembras jóvenes y en perras con ciclo estral regular (Donnay y col. 1995).
- La expresión de ER fue significativamente mas alta en tumores mamarios de perras cuya historia clínica previa indico haber tenido pseudogestaciones. La inmunoprecipitación de ER decreció significativamente con respecto al tamaño del tumor y presencia de ulceras en piel. Los tumores malignos tenían una expresión mas baja de ER con respecto a los tumores benignos. Bajos niveles de ER en tumores malignos primarios fueron asociados con ocurrencias de metástasis (Nieto y col. 2000).

OTRAS HORMONAS

En ciertos tumores de glándula mamaria también se encontraron receptores para glucocorticoides (Parodi, *et al.*, 1984) y dihidrotestosterona (D'Arville y Pierrepont 1979).

La prolactina (Rutteman *et al.*, 1989; Rutteman, 1995; Gobello, *et al.*, 2001;) y hormona del crecimiento (GH) fisiológicamente estimulan el desarrollo y diferenciación de la glándula y también la lactogénesis.

P4 → **(+) GH** → **(+) IGF-1** → **(+) Proliferación Celular**
IGF-2

A su vez, R-GH se encuentra ↑ en algunos tipos de tumores mamarios.

PSEUDOGESTACION

- Lactación fisiológica & Pseudo gestación.
- Hipoxia ligada a la distensión de los acinos.
- Radicales libres.
- Prolongado contacto de productos de degradación de la misma leche con el epitelio.

Castración concomitante a la mastectomía ??

La castración después del 2do estro no reduce el riesgo para la aparición de tumores malignos (Schneider y col., 1969; Fowler y col., 1974; Brodey y col., 1983; Morris y col., 1998; Yamagami y col., 1996).

Effect of spaying and timing of spaying on survival of dogs with mammary carcinoma.

Sorenmo KU, Shofer FS, Goldschmidt MH.

J Vet Intern Med. 2000 May-Jun;14(3):266-70.

INTRODUCCION

- El riesgo de aparición de tumores mamarios decrece significativamente con la ovariectomía a temprana edad.
- Sin embargo, varios estudios no han encontrado un beneficio con la ovariectomía concurrente a la mastectomía, sugiriendo que la progresión de esos tumores es independiente de la continúa estimulación estrogénica (Schneider y col., 1969; Yamagami y col., 1996).

- Quizas esto se deba a que varios factores no fueron evaluados: Tipo histopatológico, receptores hormonales.
- Quizás también fueron pocos casos y tampoco se evaluó el tiempo entre mastectomía y castración.
- Isoforma del receptor-AC- técnica utilizada - recuperación antigenica - funcionalidad del receptor- grado fosforilación el receptor - *cross-talk* entre receptores y *grow factors*.

OBJETIVO

El propósito de este estudio fue evaluar el efecto de la castración y el tiempo transcurrido hasta la aparición del tumor.

MATERIALES Y METODOS

137 perras con tumores de mama fueron evaluados en este estudio. Las perras fueron clasificadas en 3 grupos de acuerdo al estado hormonal.

SPAY 1: Castradas antes de los 2 años del momento de la mastectomía, o castradas en forma concomitante con la mastectomía.

SPAY 2: Castradas a más de 2 años antes, del momento de la mastectomía.

INTACT: No fueron castradas.

RESULTADOS

SPAY 1: 755 días ($p < 0,01$).

SPAY 2: 301 días ($p < 0,03$).

INTACT: 286 días ($p < 0,03$).

Este estudio reveló que la ovariectomía podría ser efectiva al momento de la remoción quirúrgica del tumor mamario y que el tiempo de la ovariectomía es importante en la supervivencia.

Que estadios ???

Los tumores del grupo INTACT eran más anaplálicos.

DISCUSION Y CONCLUSIONES

La presencia de hormonas será necesaria pero no suficiente para el desarrollo de cáncer.

Estrógenos

—————> Efecto directo: Radicales libres.

—————> Efecto indirecto

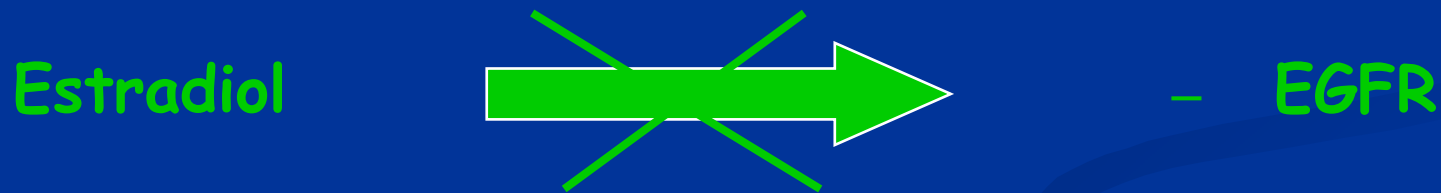
—————> Reclutamiento de células en G0, para entrar en el ciclo de división celular.

—————> Las células con mutaciones, al entrar en el ciclo celular amplifican esa mutación.

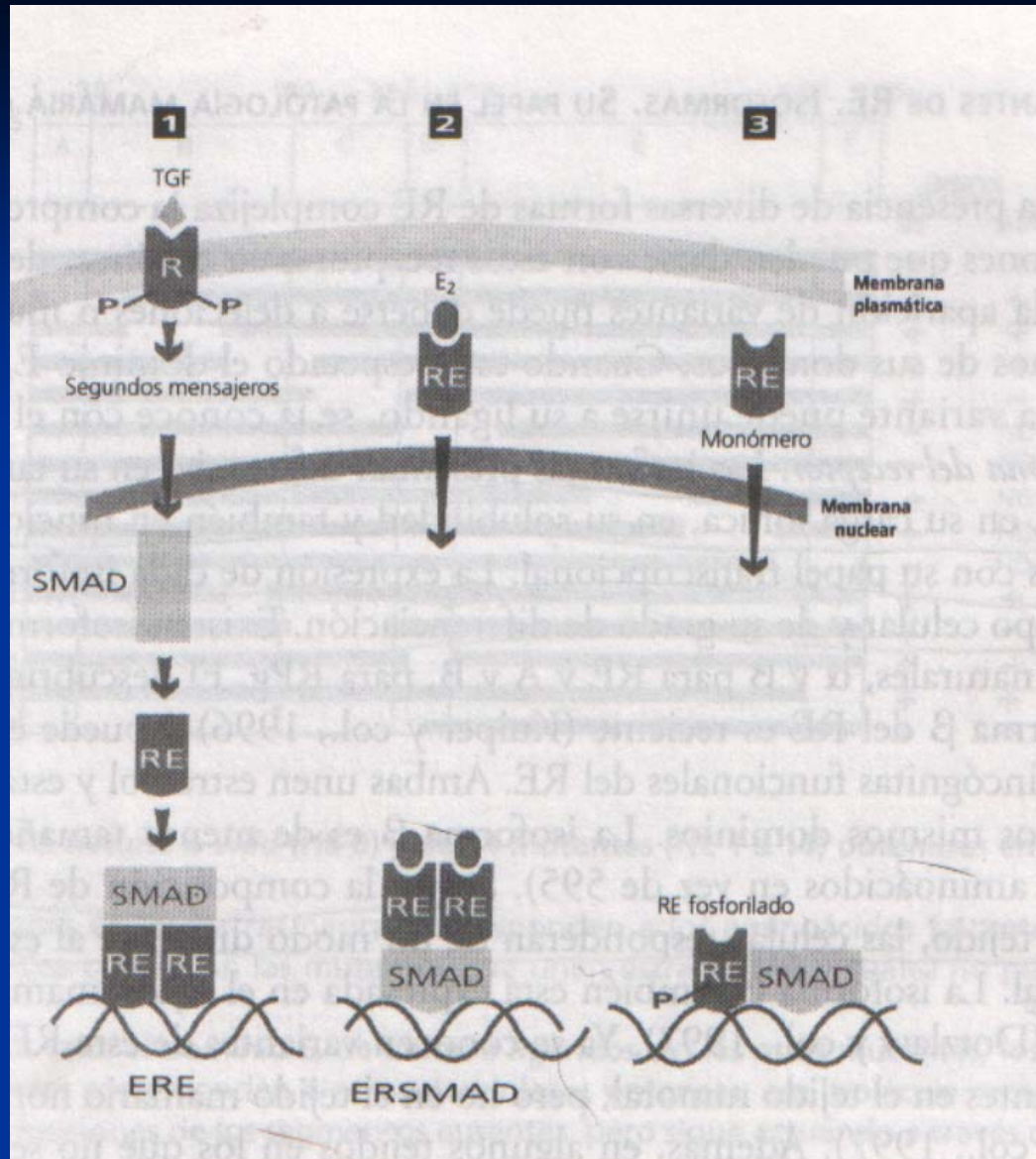
—————> La transcripción de varios oncogenes son reguladas por los estrógenos.

De acuerdo con esta teoría, las perras enteras al momento de la mastectomía serían las que más se beneficiarían con una terapia hormonal.

Por otro lado, **OJO !!!** con el rol de EGFR (c-erb B2)



Antes de decidir una terapia evaluar la mayor cantidad de factores pronósticos y predictivos posibles.



Activación de la transcripción por TGF alfa y otros factores de crecimiento vía RE aun en ausencia de estrógenos.

CONCLUSIONES

Este estudio sugiere que la progresión de tumores mamarios caninos es influenciado por el estado hormonal del hospedador, y que la ovariectomía podría ser efectiva como adyuvante a la mastectomía en determinados casos.

METALOPRO- TEINASAS

- Rol fundamental en los mecanismos de degradación durante los procesos de invasión y metástasis.

- Forman parte de una familia de más de 10 endopeptidasas que son expresadas en niveles bajos en los tejidos adultos normales.

Colagenasa intersticial (MMP-1)

colagenasa de neutrofilos (MMP-8)

2 colagenasas tipo IV (MMP-2, MMP-9)

3 estremolisinas

matricilina

metaloelastasa macrofagica

metaloproteinasa de matriz (MT-MMP)

- Los factores de crecimiento que promueven el crecimiento tumoral también inducen la producción de diversas MMPs.

- Su expresión se eleva rápidamente en procesos de remodelación tisular normales y patológicos tales como el desarrollo embrionario, la reparación tisular, la inflamación y durante la diseminación tumoral.
- Inhibidores tisulares de metaloproteinasas (TIMPs), el TIMPs-1 es el inhibidor mas conocido y ha sido aislado de una amplia variedad de tejidos y fluidos corporales.

- Varios trabajos reportan la elevada expresión de dichas enzimas en tumores mamarios caninos y la directa correlación con el grado de malignidad (Hirayama *et al.* 2002; Papparella *et al.*, 2002; Yokota *et al.*, 2001).
- La disminución de los niveles de TIMP-1 no solo iniciaría la oncogénesis, sino también predispondría a la célula a cambios posteriores conducentes a la progresión tumoral (Gomez y Alonso, 1998; Gomez 1997).

Invasión de células tumorales

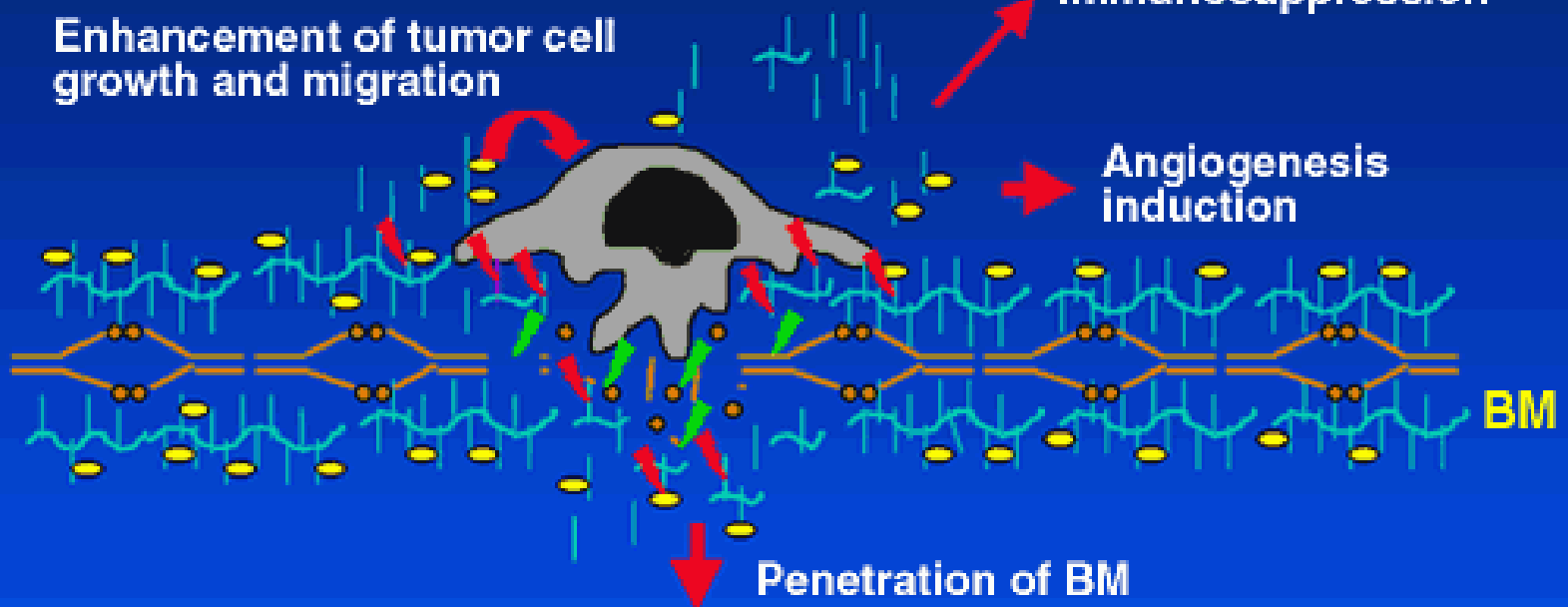
- Ciertas células tumorales se “despegan” de las otras.
- Se adhieren a la matriz extracelular
- Degradan proteolíticamente a la matriz extracelular
- Se mueven y migran fuera de la matriz extracelular.

Degradation of Basement Membrane by Invading Tumor Cell

Enhancement of tumor cell growth and migration

Immunosuppression

Angiogenesis induction



 Heparanase

 HSPG

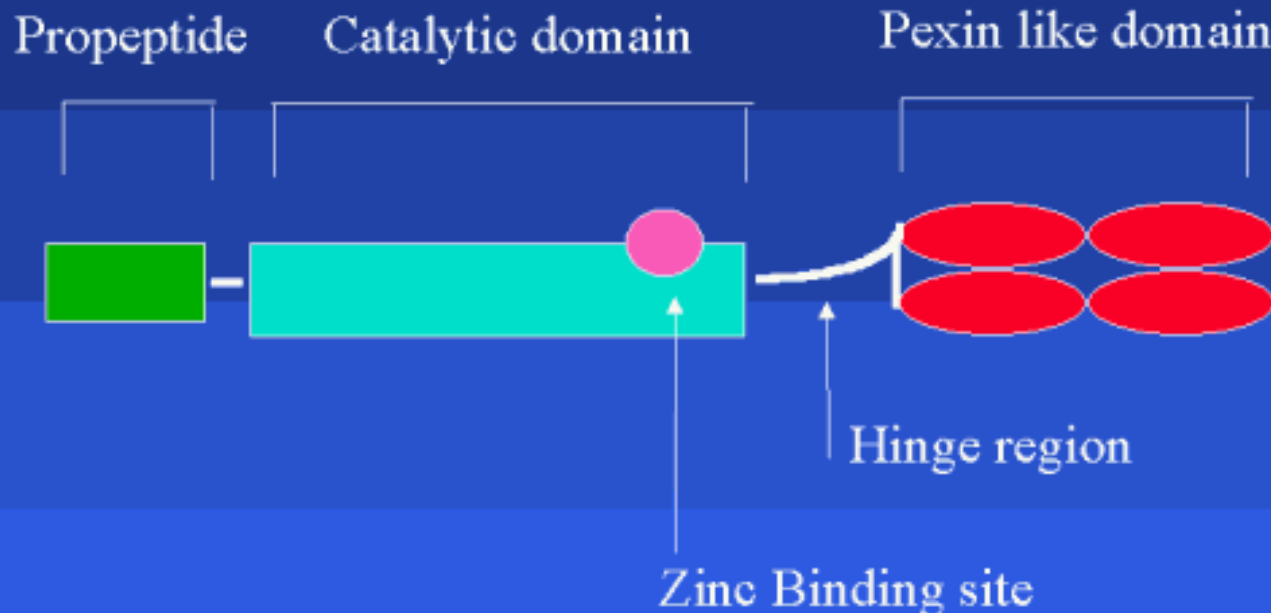
 HS

 Gelatinases

 Type IV collagen

 bFGF

General MMP structure (Collagenases/Stromelysin)



MMPs can be broken down into 3 major groups, the collagenases, the stromelysins and the gelatinases. Each have preferred substrates. All 3 types are synthesised as a relatively inactive propeptide forms, with the propeptide region requiring proteolytic cleavage for full activation of the enzyme. Also common to all MMPs is the Zinc molecule in the catalytic domain. This is essential for activity. A water molecule must bind to the Zinc to cause activation.

Yokota H.; Kumata T.; Taketaba S.; Kobayashi T.; Moue H.; Taniyama H.; Hirayama K.; Kagawa Y.; Itoh N.; Fujita O.; Nakade T.; Yuasa A. 2001. High expression of 92 kDa type IV collagenase (matrix metalloproteinase-9) in canine mammary adenocarcinoma. *Biochim Biophys Acta.* 7;1568(1):7-12.

Papparella S.; Restucci B.; Paciello O.; Maiolino P. 2002. Expression of matrix metalloprotease-2 (MMP-2) and the activator membrane type 1 (MT1-MMP) in canine mammary carcinomas. *J Comp Pathol.* May;126(4): 271-6.

Hirayama K.; Yokota H.; Onai R.; Kobayashi T.; Kumata T.; Kihara K.; Okamoto M.; Sako T.; Nakade T.; Izumisawa Y.; Taniyama H. 2002 Detection of matrix metalloproteinases in canine mammary tumours: analysis by immunohistochemistry and zymography. *J Comp Pathol.* 127(4): 249-256.

Tabla 1 – Asociación entre el diagnóstico morfológico y la expresión de actividad MMP-9 en tejidos mamarios caninos(18).

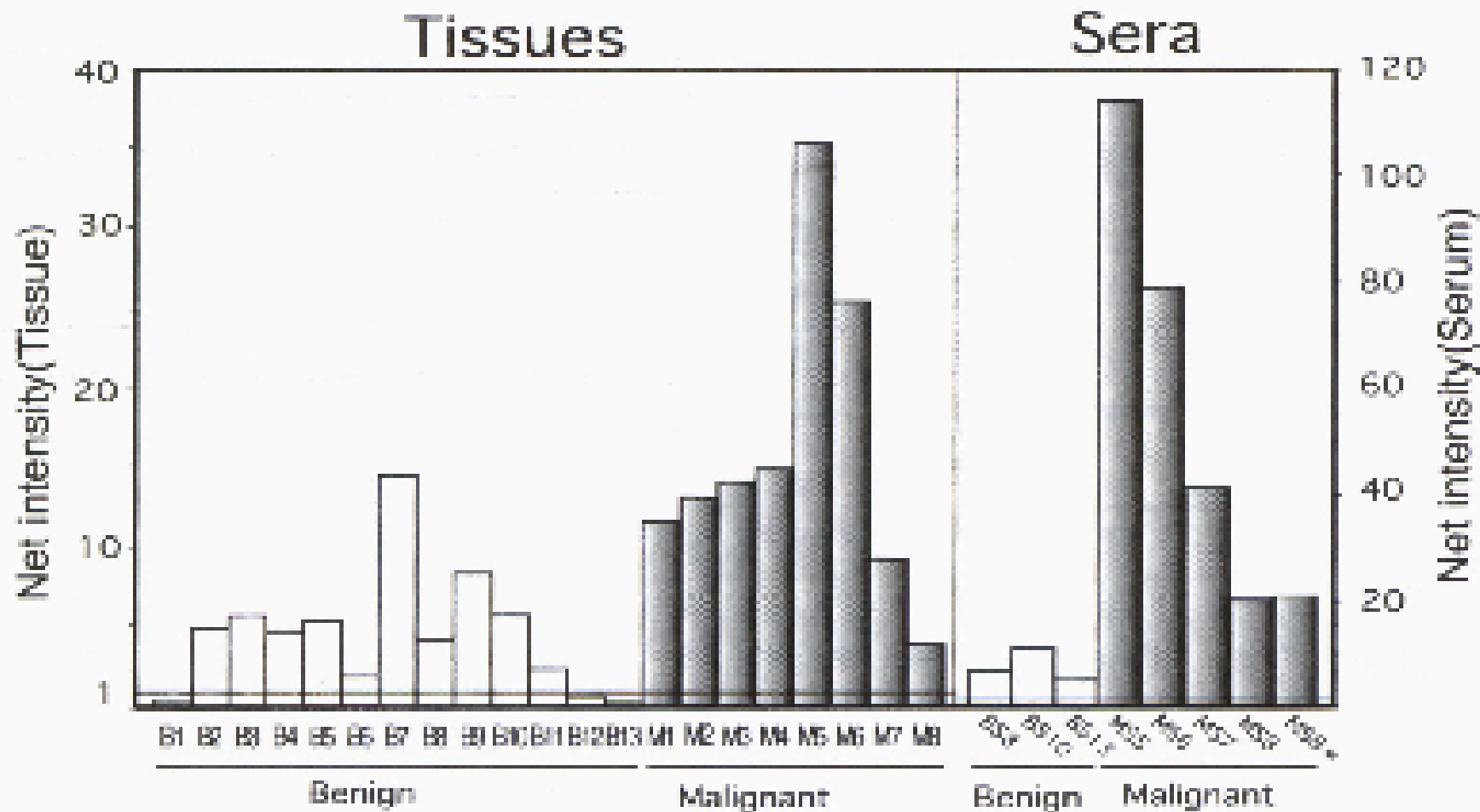
Nº	Nombre	Diagnostico morfológico	Intensidad neta
1		Normal-b	0,55
2		Normal-b	0,76
3		Normal-b	1,58
4		Normal-b	1,45
5		Normal	0,66
6a		Normal	1,12
7	B1	Tumor mixto (benigno)	0,45
8	B2	Hiperplasia y papiloma intraductal	5,02
9	B3	Tumor mixto (benigno)	5,83
10	B4	Tumor mixto (benigno)	4,84
11	B5	Tumor mixto (benigno)	5,54
12	B6	Tumor mamario benigno	2,02
13	B7	Tumor mixto (benigno) y metaplasia-b	14,79
14	B8	Tumor mixto (benigno)	4,28
15	B9	Tumor mixto (benigno)	8,59
16	B10	Tumor mixto (benigno)-b	5,88
17	B11	Tumor mixto (benigno)	2,49
18	B12	Tumor mixto (benigno)	0,71
19	B13	Adenoma papilar intraductal-b	0,43
20	M1	Adenocarcinoma mamario	11,85
21	M2	Tumor mixto (maligno)	13,26
22	M3	Carcinoma bien diferenciado	14,37
23	M4	Adenocarcinoma medular	15,19
24	M5	Adenocarcinoma mamario-b	35,80
25	M6	Adenocarcinoma mamario-b	25,88
26	M7	Adenocarcinoma mamario-b	9,43
27	M8	Adenocarcinoma mamario-b	4,04

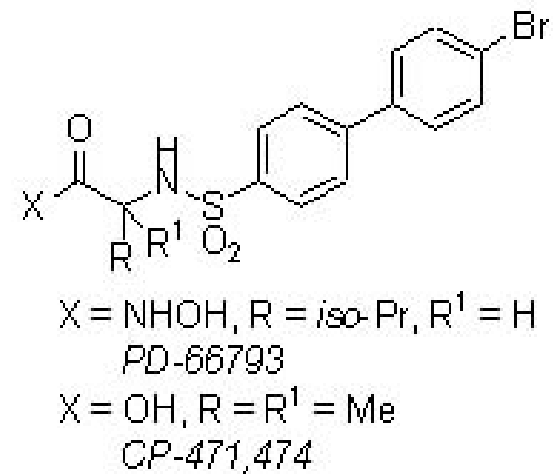
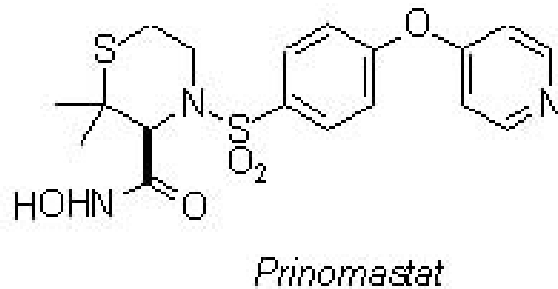
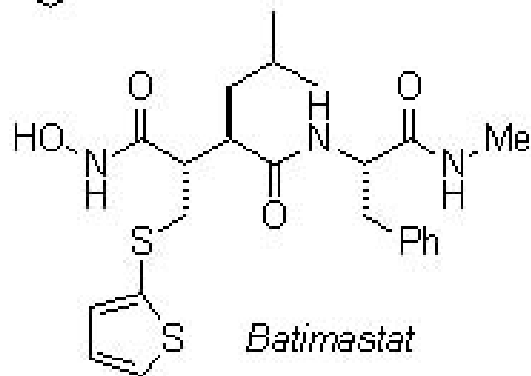
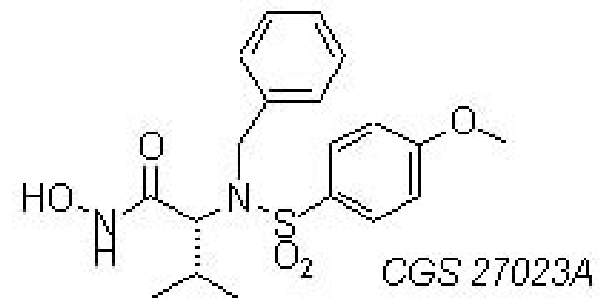
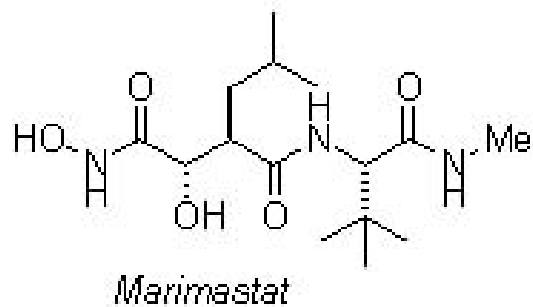
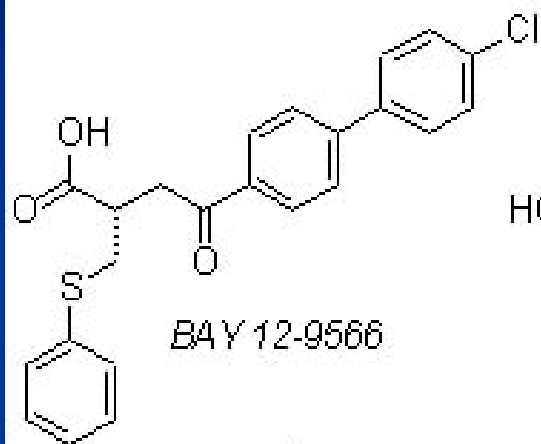
Intensidad neta de las respectivas bandas por enzimografía fueron analizadas por Kodac EDAS y fueron mostradas como intensidad neta.

a: esta muestra fue preparada a partir de tejido mamario normal de un canino que había tenido un adenocarcinoma mamario.

b: muestras de suero que fueron medidas por enzimografía

Intensidad comparada de metaloproteinasas en tejidos y suero de perras con tumores benignos y malignos.





MUCHAS GRACIAS !!!