

Tumores mamarios caninos: Un enfoque Hormonal



Guillermo Hermo (*); Cristina Gobello

Laboratorio de Fisiología Reproductiva, Cátedra de Fisiología, Facultad de Ciencias Veterinarias.

() Autor corresponsal: Med. Vet. Guillermo A. Hermo
Email: Laboratorio de Fisiología Reproductiva, Cátedra de Fisiología, Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata. ghermo@unq.edu.ar*

Los tumores de glándula mamaria son la neoplasia de más frecuente presentación en perras, representando el 42 % de todos los tumores y el 82 % de los provenientes del aparato reproductivo femenino (Brodey y col., 1983; Moulton, 1990). Existe escasa información con respecto a la prevalencia de las neoplasias de glándula mamaria en caninos. Estudios comúnmente citados reportan una prevalencia de 145 a 205 cada 100.000 animales/año (Dobson y col., 2002; Scheneider, 1970). Más recientemente se ha publicado una prevalencia mucho más alta, de 111 cada 10.000 animales/año (Egenvall y col., 2005).

Son varios los genes y proteínas codificadas por éstos, involucrados en el desarrollo y progresión de las neoplasias mamarias en esta especie. Algunos/as de los más importantes en los cuales su desregulación influye en esta enfermedad, son: hormona del crecimiento (Lantinga-van Leeuwen y col., 2000; Mol y col., 1995 a; 1995 b; 1997; 1999; van Garderen y col., 1997; 1999; 2001, 2002); factor tipo insulínico I y la proteína relacionada a la hormona paratiroidea (Gilbertson y col., 1983; Okada y col., 1997; Weir y col., 1998); factores de crecimiento transformante (Blood y Zetter, 1990; Donnay, y col., 1994; Ettinger y Feldman, 1997); alteración de genes que regulan los mecanismos de detoxificación celular como BRCA 1 (Nieto y col., 2003; Tsuchida y col., 2001); oncogenes tales como c-erb (Ahern y col., 1996; Martin de las Mulas y col., 2003; Matsuyama y col., 2001); c-kit (Kubo y col., 1998) y c-myc (Engström y col., 1987; Inoue y Shiramizu 1999); genes supresores de tumor como p53 (Chu y col., 1998; Haga y col., 2001; Inoue y

Shiramizu 1999; Kumaraguruparan y col., 2006; Lee y Kweon, 1992; Veldhoen, y col., 1999; Wakui y col., 2001) y PTEN (Kanae y col., 2006; Lee y col., 1999).

A pesar de la etiología multifactorial, las hormonas por intermedio de sus receptores hormonales (RH), principalmente el receptor de estrógeno (RE) y el receptor de progesterona (RP) juegan un rol fundamental en esta frecuente enfermedad que afecta a los caninos. Algunas de las evidencias más fuertes que postulan su acción son las siguientes:

- La ovariectomía temprana es preventiva, y la presencia de receptores para hormonas esteroideas en los tejidos tumorales indicarían que el factor hormonal podría estar involucrado en el desarrollo de tumores mamarios (Battistacci, 1974; Hellmén, 1993). La ovariectomía temprana es una firme protección contra el desarrollo de tumores mamarios, el riesgo de desarrollar un tumor mamario a lo largo de toda la vida de una perra es de 0,5 % para las perras esterilizadas antes del primer estro, 8 % para las esterilizadas después del primer ciclo y 26 % para aquellas esterilizadas después de 2 o más ciclos (Schneider y col., 1969).

- La influencia de la ovariectomía en la evolución de los tumores mamarios existentes es punto de controversia. Así, en uno de los trabajos iniciales, se demuestra que el riesgo de tumores benignos se reduce con ovariectomía aún en edades avanzadas (Misdortp, 1991).

En un estudio retrospectivo en 145 animales con carcinomas mamarios malignos se observó que las perras castradas dentro de los 2 años de desarrollado el tumor mostraban una mayor supervivencia con respecto a las no castradas o a las castradas luego de los 2 años del diagnóstico del tumor (Soremmo y col., 2000). En cambio, otros trabajos no han evidenciado beneficio alguno por efecto de la castración (Schneider y col., 1969; Yamagami y col., 1996).

- En la última década, utilizando métodos bioquímicos, varios estudios han revelado la presencia de RE y RP en tumores mamarios. Estos resultados indican un rol importante de las hormonas sexuales en el desarrollo de estos tumores. Los RE y RP están expresados en más del 50 % de las neoplasias malignas (Donnay y col., 1996; Martin y col., 1984; Nieto y col., 2000; Parodi y col., 1984; Rutteman y col., 1988; Sartín y col., 1992).

- El desarrollo normal de la mama requiere la acción de RE, PR y factores de crecimiento. La vía estrogénica estimula la elongación ductal mientras que la vía mediada por progestágenos induce el desarrollo de las bifurcaciones ductales y alveogénesis mamaria (Hovey y col., 2002; Robinson y col., 2000). Así, vías de señalización involucradas en el crecimiento y desarrollo normal de la glándula mamaria, podrían ser reactivadas durante la progresión del cáncer mamario (Lange, 2007).

- La prolongada administración de estrógenos no ha mostrado un incremento de la incidencia de tumores mamarios en caninos. En cambio, la administración de progestágenos se asocia con incremento en la aparición de tumores mamarios benignos en la perra (Briggs, 1980; Donnay y col., 1994; El Etreby y col., 1979; El Etreby y Gráf 1979; Gráf y El Etreby 1979; Misdorp, 1988; Neumann y col., 1979; Rutteman, 1990; Selman, 1994; Stovring y col., 1997; Weikel y Nelson 1977).

- Son varias las vías de señalización celular involucradas en el desarrollo y progresión tumoral, mediadas por progestinas y el RP (Ballare y col., 2003; Gillett y col., 1994; Kaltz-Wittmer y col., 2000; Migliaccio y col., 1998).

- La progesterona, por intermedio de sus receptores, tiene efectos proliferativos y carcinogénicos sobre la mama (Frank y col., 1979).

- La progesterona a través de la vía de la isoforma A de RP (RP-A), tienen una acción claramente inhibitoria sobre el crecimiento celular en el útero; pero juega un rol proliferativo a través de la vía de la isoforma B de RP (RP-B) en el desarrollo de la mama (Conneely y col., 2003).

-Recientemente se ha observado, que las progestinas también podrían inducir poblaciones celulares precancerosas o estimular a stem cell durmientes a la reintroducción inapropiada del ciclo de división celular, para dirigir las hacia una fase proliferativa. Puntualmente, se ha visto que una progestina sintética, como lo es el acetato de medroxiprogesterona, interactuaría con receptores androgénicos, y podría alterar endocrinológicamente el sistema de transducción de señales, las cuales desarrollan un efecto protector en la mama normal (Birrel y col., 2007).

El diagnóstico clínico de las neoplasias mamarias se basa en la anamnesis y el examen físico completo. La anamnesis, debe incluir datos sobre raza, edad, castración, administración de hormonas sexuales, fecha de aparición del tumor y ritmo de crecimiento. En el examen físico se debe identificar la localización y tamaño de cada tumor, las adherencias a planos profundos y/o piel y el estado de los linfonodos regionales.

Los métodos diagnósticos complementarios permiten definir el estadio de la neoplasia. La radiología es un método de utilidad en pacientes oncológicos para la detección de metástasis pulmonares las cuales pueden no dar signología (Mangieri, 1994; Thrall, 2003). En condiciones prácticas la resonancia magnética nuclear y la tomografía axial computada o tomografía por emisión de positrones no son posibles generalmente de ser realizadas.

El examen citológico de muestras obtenidas mediante aspiración por aguja fina del tumor suele rendir resultados ambiguos (Allen y col., 1986; Griffiths, y col., 1984). Por otra parte, la biopsia escisional es el método de elección para confirmar el diagnóstico. Con la información aportada por los exámenes clínicos y complementarios es posible estatificar a la paciente y así instaurar el tratamiento más apropiado (De Vita y col., 1997; Tabla 1).

Tabla 1: Sistema de estadios clínicos de neoplasias malignas de glándula mamaria (Rutteman y col., 2001).

ESTADIOS CLÍNICOS DE LOS TUMORES DE GLÁNDULA MAMARIA EN CANINOS			
ESTADIO	TUMOR PRIMARIO (T)	ESTADO DEL LINFONODULO REGIONAL (N)	METASTASIS A DISTANCIA (M)
I	Diámetro menor a 2,9 cm.	No afectado	No hay evidencia de metástasis a distancia detectada
II	Diámetro entre 3 a 4,9 cm.	No afectado	No hay evidencia de metástasis a distancia detectada
III	Diámetro mayor a 5 cm.	No afectado	No hay evidencia de metástasis a distancia detectada
VI	Cualquier T	Metástasis diagnosticada por histopatología	No hay evidencia de metástasis a distancia detectada
V	Cualquier T	Cualquier N	Metástasis a distancia detectada

Se ha postulado, también, que el cáncer de mama presenta distintos momentos evolutivos (Fiddler, 1978, 1995, Fiddler y col., 1978, 1982, 1985) con un incremento progresivo de la agresividad clínica asociada a diferentes patrones histológicos. Así se describen lesiones preneoplásicas, y lesiones invasivas hormono-dependientes y hormono-independientes. En la clínica, se predice el grado de dependencia hormonal evaluando la presencia de receptores hormonales. Los receptores nucleares participan en diversos procesos biológicos, como diferenciación, crecimiento y homeostasis celular. Cuando se trata de proliferación celular los RE y los RP están directamente involucrados, y la integridad funcional de los mismos es fundamental para la multiplicación, crecimiento y diferenciación normal de las células de los tejidos sensibles a la hormona. La transformación celular y consecuentemente la adquisición del fenotipo neoplásico (incluyendo inmortalidad, alteraciones nucleares y citoplasmáticas, crecimiento descontrolado) puede deberse a causas varias, de las cuales muchas son debidas a la desregulación hormonal.

Existen ciertos factores para la evaluación del pronóstico de la enfermedad neoplásica. Estos permiten predecir la aparición de recidivas y/o metástasis tumorales y así estimar la supervivencia libre de enfermedad (SLE) y la supervivencia general (SG). La SLE es el período entre el tratamiento quirúrgico del tumor y la aparición de recidivas local, regional y/o metástasis. La SG muestra el tiempo entre la extirpación de la masa tumoral y la muerte del animal por la neoplasia u otras causas.

Las coloraciones especiales, y en particular las técnicas inmunohistoquímicas, introducen datos auxiliares que complementan y enriquecen las observaciones morfohistológicas. La técnica de inmunohistoquímica descrita por Walker y col., (1998) y Mote y col., (2001) es de utilidad para la determinación de receptores de estrógenos (RE) y receptores de progesterona (RP) en tumores mamarios de la hembra canina (Ilera y col., 2006; Martin de las Mulas y col., 2002, 2004, 2005; Millanta y col., 2005; Nieto y col., 2000).

Existe bastante controversia con respecto al porcentaje de RE y RP en tumores malignos caninos debido, muy probablemente, a la falta de uniformidad en criterios de inclusión de los casos. Así, para el caso RE-a algunos estudios demuestran que el porcentaje tumores que los expresan es alto (Millanta y col., 2005; Nieto y col., 2000; Sobczac-Filipiak y col., 2002); medio (Graham y col., 1999; Martin de las Mulas y col., 2005) o bajo (Geraldés y col., 2000; Ilera y col., 2006). Para los RE-B también se encuentran datos dispares (Martin de las Mulas y col., 2004; Ilera y col., 2006). Particularmente, para los RP algunos autores también hallaron una elevada expresión (Throczy y col., 2007), y otros lo contrario (Martin de las Mulas y col., 2005; Millanta y col., 2005).

Existen trabajos sobre la aplicación de técnicas inmunohistoquímicas para la identificación de receptores en tumores mamarios caninos malignos y benignos en forma conjunta (Martin de las Mulas y col., 2005; Nieto y col., 2000); malignos y benignos en forma separada (Martin de las Mulas y col., 2004, 2005; Millanta y col., 2005; Nieto y col., 2000; Throczy y col., 2007) y otros que abordan únicamente los malignos (Ilera y col., 2006). Un reciente trabajo ha sido publicado respecto a la expresividad de diferentes RH en diferentes estadios clínicos (Hermo y col., 2009). El conocimiento de la expresión de receptores en los distintos estadios clínicos aportará, indudablemente, un verdadero valor pronóstico y terapéutico que se traduciría en una mejoría clínica del animal.

Los factores pronóstico de las neoplasias mamarias pueden ser clínicos y/o histológicos. Los primeros involucran la edad del animal, localización y número de tumores, estadio clínico, ritmo de crecimiento, presencia de ulceración entre los más importantes (Kurzman y Gilbertson, 1986). Los factores histológicos incluyen el tipo (Hellmen, 2005; Misdorp y col., 1990; Yamagami y col., 1996), patrón (Elston y Ellis, 1991; Hellmen y col., 1993) y grado histológico (Elston y Ellis, 1991; Karayannopoulou y col., 2005; Kirpensteijn y col. 2002; Sloane y col., 1999).

La cirugía es el método de elección y más ampliamente usado para las neoplasias mamarias caninas, salvo en presencia de enfermedad metastásica, carcinoma inflamatorio o mal estado general del animal. Las técnicas incluyen nodulectomía, mastectomía, mastectomía en bloque, mastectomía radical uni o bilaterales (Bojrab y col., 1993; Wilkinson, 1971; Withrow, 1975).

Las drogas quimioterápicas pueden ser indicadas para tratar metástasis establecidas, tumores primarios infiltrados o como adyuvante o neoadyuvante a la cirugía. Existen diversos protocolos quimioterápicos disponibles a evaluar para cada caso

en particular. Las drogas más utilizadas son doxorubicina (Hahn, 2001; Hahn y col, 1992; Simon y col., 2006); ciclofosfamida junto con 5-fluorouracilo (Karayannopoulou y col., 2001) y mitoxantrona (Ogilvie y col., 1991).

La utilización de antiestrógenos como el tamoxifeno, como adyuvantes está altamente restringida en la especie, debido a sus severos efectos agonistas (Morris y col., 1993; Kitchell, 1995). Los agonistas de GnRH, usados a dosis sostenidas en el tiempo inhiben reversiblemente el eje gonadal, luego de un período de estimulación inicial (McRae y col., 1985) que a veces puede resultar perjudicial.

La radioterapia también puede emplearse como terapia adyuvante posquirúrgica o en el tratamiento de tumores inoperables o en metástasis óseas (Mc Leod y Thrall Da 1999), no obstante no existen muchos reportes referidos a su eficacia en el tratamiento de tumores mamarios. La inmunoterapia es de eficacia controversial (Mc Ewen y col., 1985; Mc Ewen y Withrow, 1996), aunque se han descritos algunos resultados alentadores cuando la masa tumoral se reduce previamente (Harvey y Gilbertson, 1977). Una teoría publicada en 1989 (Shofer y col., 1989) y citada en varios textos (Alenza y col., 1998) sugiere que el consumo de una dieta hiperproteica e hipograsa en perras con cáncer mamario puede prolongar su tiempo de sobrevivencia.

Actualmente las estrategias terapéuticas de las neoplasias mamarias están orientadas a buscar tratamientos no tóxicos dirigidos a blancos moleculares específicos que permitan al animal convivir con la enfermedad por un tiempo prolongado. Estas nuevas terapias, en conjunción con los métodos convencionales constituyen las prácticas más prometedoras para los próximos años.

Agradecimientos

G. Hermo es becario de CONICET, resolución D N° 0027/08.

BIBLIOGRAFÍA

- Ahern, T.E.; Bird, R.C.; Bird, A.E; Wolfe L.G. (1996) Expression of the oncogene c-erbB-2 in canine mammary cancers and tumor-derived cell lines. *Am J Vet Res* 57:693-696.
- Alenza, D.P.; Rutterman, G.R.; Pena, L.; Beynen, A.C.; Cuesta, P. (1998) Relation between habitual diet and canine mammary tumors in a case-control study. *J Vet Int Med* 12:132-139.
- Allen, S.W.; Prasse, K.W.; Mahaffey, E.A. (1986) Cytologic differentiation of benign from malignant canine mammary tumor. *Vet Pathol* 23:649-655.
- Ballare, C.; Uhrig, M.; Bechtold, T.; Sancho, E.; Di Domenico, M.; Migliaccio, A.; Auricchio, F.; Beato, M. (2003) Two domains of the progesterone receptor interact with the estrogen receptor and are required for progesterone activation of the c-Src/Erk pathway in mammalian cells. *Mol Cell Biol* 23:1994-2008.
- Battistacci, M.; Calandra, M.L. (1974) Quantitative measurement of metabolites of the tryptophane-niacin pathway in healthy bitches and those affected with mammary dysplasia and neoplasia. *Nuova Vet* 50:246-252.
- Birrell, S.N.; Butler, L.M.; Harris, J.M.; Buchanan G.; Tilley, W.D. (2007) Disruption of androgen receptor signaling by synthetic progestins may increase risk of developing breast cancer. *FASEB J* 21:2285-2293.
- Blood, C.H.; Zetter, B.R. (1990) Tumor interactions with the vasculature: angiogenesis and tumor metastasis. *Acta Bioch Bioph* 1032:89-93.
- Bojrab, M.J.; Birchard, S.J.; Tomlinson, J.L.(Jr.) (1993) Técnicas actuales en cirugía de pequeños animales. 3rd ed. Intermedica. Buenos Aires, Argentina. 447-452.
- Briggs, M.H. (1980) Progestogens and mammary tumours in the Beagle bitch. *Res Vet Sci* 28:199-202.
- Brodey, R.S.; Goldschmidt, M.A.; Roszel, J.R. (1983) Canine mammary gland neoplasms. *J Am Anim Hosp Assoc* 19:61-90.
- Chu, L.L.; Rutteman, G.R.; Kong, J.M.; Ghahremani, M.; Schmeing, M.; Misdorp, W.; van Garderen, E.; Pelletier, J. (1998) Genomic organization of the canine p53 gene and its mutational status in canine mammary neoplasia. *Breast Cancer Res Treat* 50:11-25.
- Conneely, O.M.; Mulac-Jericevic, B.; Lydon, J.P. (2003) Progesterone-dependent regulation of female reproductive activity by two distinct progesterone receptor isoforms. *Steroids* 68:771-778.

13. DeVita, V.; Hellman, S.; Rosenberger, S. (1997) *Cancer: Principles and practice of Oncology*. 5th. ed. Lippincott-Raven.

14. Dobson, J.M.; Samuel, S.; Milstein, H.; Rogers, K; Wood, J.L. (2002) Canine neoplasia in the UK: estimates of incidence rates from a population of insured dogs. *J Small Anim Pract* 43(6):240-246.

15. Donnay, I.; Devleeschower, N.; Wouters-Ballman, P.; Leclero, G.; Verstegen, J. (1996) Relationship between receptors for epidermal growth factor and steroid hormones in normal, dysplastic and neoplastic canine mammary tissues. *Res Vet Sci* 60:251-254.

16. Donnay, I.; Rauis, J.; Verstegen, J. (1994) Influence des antécédents hormonaux sur l'apparition clinique des tumeurs mammaires chez la chienne. Étude épidémiologique. *Ann Med Vet* 138:109-117.

17. Egenvall, A.; Bonnett, B.N.; Ohagen, P; Olson, P; Hedhammar, A.; von Euler, H. (2005) Incidence of and survival after mammary tumors in a population of over 80,000 insured female dogs in Sweden from 1995 to 2002. *Prev Vet Med* 10:109-127.

18. El Etreby, M.F.; Gräf, K.J. (1979) Effect of contraceptive steroids on mammary gland of beagle dog and its relevance to human carcinogenicity. *Pharmacol Ther* (B)5:369-402.

19. El Etreby, M.F.; Gräf, K.J.; Beier, S.; Elger, W.; Günzel, P.; Neumann, F. (1979) Suitability of the beagle dog as a test model for the tumorigenic potential of contraceptive steroids. "A short review". *Contraception* 20:237-256.

20. Elston, C.W.; Ellis, I.O. (1991) Pathological prognosis factors in breast cancer. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study, with long-term follow-up. *Histopathology* 19:403-410.

21. Elston, C.W.; Ellis, I.O. (1991) Pathological prognosis factors in breast cancer. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study, with long-term follow-up. *Histopathology* 19:403-410.

22. Engström, W.; Barrios, C.; Azawedo, E.; Möllermark, G.; Kängström, L.E.; Eliason, I.; Larsson, O. (1987) Expression of c-myc in canine mammary tumours. *Anticancer Res* 1235-1237.

23. Ettinger, S.J.; Feldman, E.C. (1997) *Enfermedad pituitaria hipotalámica*. Tratado de medicina interna veterinaria. 4ta ed. Intermedica. 1724-1740.

24. Fiddler, I.J. (1978) Tumor heterogeneity and the biology of cancer invasion and metastasis. *Cancer Res* 38:2651-2660.

25. Fiddler, I.J. (1990) Critical factors in the biology of human cancer metastasis: twenty-eighth GHA Clowes memorial award lecture. *Cancer Res* 50:6130-6138.
26. Fiddler, I.J. (1995) Modulation of the organ microenvironment for the treatment of cancer metastasis (editorial). *J Natl Cancer Inst* 84:1588-1592.
27. Fiddler, I.J.; Gersten, D.M.; Hart, I.R. (1978) The biology of cancer invasion and metastasis. *Adv Cancer Res* 28:149-250.
28. Fidler, I.; Hart, I.R. (1982) Biological diversity in metastasis neoplasms: origins and implications. *Science* 217:998-1003.
29. Fidler, I.J.; Poste, G. (1985) The cellular heterogeneity of malignant neoplasms: implications for adjuvant chemotherapy. *Semin Oncol* 12:207-221.
30. Frank, D.W.; Kirton, K.T.; Murchison, T.E.; Quintan, W.J.; Coleman, T.J.; Gilbertson, T.J.; Feenstra, E.S.; Kimball, F.A. (1979) Mammary tumors and serum hormones in the bitch treated with medroxyprogesterone acetate and progesterone for four years. *Fertil Steril* 31:340-346.
31. Geraldès, M.; Gärtner, F.; Schmitt, F. (2000) Immunohistochemical study of hormonal receptors and cell proliferation in normal canine mammary glands and spontaneous mammary tumours. *Vet Rec* 1;146:403-406.
32. Gilbertson, S.R.; Kurzman, I.D.; Zachrau, R.E.; Hurvitz, A.I.; Black, M.M. (1983) Canine mammary epithelial neoplasm: Biologic implications of morphologic characteristics assessed in 232 dogs. *Vet Pathol* 20:127-142.
33. Gillett, C.; Fantl, V.; Smith, R.; Fisher, C.; Bartek, J.; Dickson, C.; Barnes, D.; Peters, G. (1994) Amplification and overexpression of cyclin D1 in breast cancer detected by immunohistochemical staining. *Cancer Res* 54:1812-1817.
34. Gräf, K.J.; El Etreby, M.F. (1979) Endocrinology of reproduction in the female beagle dog and its significance in mammary gland tumorigenesis. *Acta Endocrinol Suppl (Copenh)* 222:1-34.
35. Graham, J.C.; O'Keefe, D.A.; Gelberg, H.B. (1999) Immunohistochemical assay for detecting estrogen receptors in canine mammary tumors. *Am J Vet Res* 60:627-630.
36. Griffiths, G.L.; Lumsden, J.H.; Valli V.E.O. (1984) Fine needle aspiration cytologic and histologic correlation in canine tumors. *Vet Clin Pathol* 13:13-17.
37. Haga, S.; Nakayama, M.; Tatsumi, K.; Maeda, M.; Imai, S.; Umesako, S.; Yamamoto, H.; Hilgers, J.; Sarkar, N.H. (2001) Overexpression of the p53 gene product in canine mammary tumors. *Oncol Rep* 8:1215-1219.
38. Hahn, K.A. (1992) Canine Malignant mammary neoplasia: Biologic behavior, diagnosis, and treatment alternatives. *J Am Anim Hosp Assoc* 28:251-257.
39. Hahn, K.A. (2001) Practical indications and contraindications for tamoxifen. *Proceeding The North American Conference. Small Animal and Exotics. Orlando, Florida. 665-666.*
40. Harvey, H.J.; Gilbertson, S.R. (1977). Canine mammary gland tumors. *Vet Clin North Am* 7:213-219.
41. Hellmén E. (1993) Canine mammary tumour cell lines established in vitro. *J Reprod Fertil Suppl* 47:489-499.
42. Hermo, G.; Soldati, R.; Wargon, V.; Scursioni, A.; Lanari, C.; Gobello, C. (2009) Puesta a punto de la inmunohistoquímica y expresión de receptores de estrógenos y progesterona en neoplasias mamarias malignas caninas en distintos estadios clínicos. Enviado a Revista Científica.
43. Hovey, R.C.; Trott, J.F.; Vonderhaar, B.K. (2002) Establishing a framework for the functional mammary gland: from endocrinology to morphology. *J Mamm Gland Biol Neoplasia* 7 17-38.
44. Illera, J.C.; Pérez-Alenza, M.D.; Nieto, A.; Jiménez, M.A.; Silvan, G.; Dunner, S.; Peña L. (2006) Steroids and receptors in canine mammary cancer. *Steroids* 71:541-548.
45. Inoue, M.; Shiramizu, K. (1999) Immunohistochemical detection of p53 and c-myc proteins in canine mammary tumours. *J Comp Pathol* 120:169-175.
46. Kaltz-Wittmer, C.U.; Klenk, A.; Glaessgen, D.E.; Aust, J.; Diebold, U.; Baretton, G.B. (2000) FISH analysis of gene aberrations (MYC, CCND1, ERBB2, RB, and AR) in advanced prostatic carcinomas before and after androgen deprivation therapy. *Lab Invest* 80:1455-1464.
47. Kanae, Y.; Endoh, D.; Yokota, H.; Taniyama, H.; Hayashi, M. (2006) Expression of the PTEN tumor suppressor gene in malignant mammary gland tumors of dogs. *Am J Vet Res* 67:127-133.
48. Karayannopoulou, M.; Kaldrymidou, E.; Constantinidis, T.C.; Dessiris, A. (2005) Histological grading and prognosis in dogs with mammary carcinomas: application of a human grading method. *J Comp Pathol* 133:246-252.
49. Karayannopoulou, M.; Kaldrymidou, E.; Constantinidis, T.C.; Dessiris, A. (2001) Adjuvant post-operative chemotherapy in bitches with mammary cancer. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med* 48:85-96.
50. Kirpensteijn J.; Kik M.; Rutteman G.R.; Teske, E. (2002). Prognostic significance of a new histologic grading system for canine osteosarcoma. *Vet Pathol* 39:240-246.
51. Kitchell, B.E. (1995) Mammary tumors. En: Bonagura JD (ed). *Kirk's Current Veterinary Therapy XII. Philadelphia, WB Saunders. 1098-1102.*
52. Kubo, K.; Matsuyama, S.; Katayama, K.; Tsutsumi, C.; Yonezawa, K.; Shimada, T.; Kotani, T.; Sakuma, S.; Ohashi, F.; Takamori, Y. (1998) Frequent expression of the c-kit proto-oncogene in canine malignant mammary tumor. *J Vet Med Sci* 60:1335-1340.
53. Kumaraguruparan, R.; Prathiba, D.; Nagini, S. (2006) Of humans and canines: Immunohistochemical analysis of PCNA, Bcl-2, p53, cytokeratin and ER in mammary tumours. *Res Vet Sci* 81:218-224.
54. Kurzman, I.D.; Gilbertson, S.R. (1986) Prognostic factors in canine mammary tumors. *Semin Vet Med Surg* 1:25-31.
55. Lange, C.A. (2007) Integration of progesterone receptor action with rapid signaling events in breast cancer models. *J Steroid Biochem Mol Biol* 108:203-212.
56. Lantingavan-Leeuwen, I.S.; van Garderen, E.; Rutteman, G.R.; Mol, J.A. (2000) Cloning and cellular localization of the canine progesterone receptor: co-localization with growth hormone in the mammary gland. *J Steroid Biochem Mol Biol* 31:219-228.
57. Lee, C.H.; Kweon, K. (2002) Mutations of p53 tumor suppressor gene in spontaneous canine mammary tumors. *J Vet Sci* 3:321-325.
58. Lee, J.O.; Yang, H.; Georgescu, M.M.; Di Cristofano, A.; Maehama, T.; Shi, Y.; Dixon, J.E.; Pandolfi, P.; Pavletich, N.P. (1999) Crystal structure of the PTEN tumor suppressor: implications for its phosphoinositide phosphatase activity and membrane association. *Cell* 29:323-334.
59. MacEwen, E.G.; Harvey, H.J.; Patnaik, A.K.; Mooney, S.; Hayes, A.; Kurzman, I.; Hardy, W.D.(Jr.) (1985) Evaluation of effects of levamisole and surgery on canine mammary cancer. *J Biol Response Mod* 4:418-426.
60. Mangieri, J. (1994) *Oncología veterinaria. Prensa Veterinaria Argentina. Buenos Aires. Argentina. 3a. ed. 129-210.*
61. Martín de las Mulas, J.M.; Millán, Y.; Dios, R.A. (2005) Prospective analysis of immunohistochemically determined estrogen receptor alpha and progesterone receptor expression and host and tumor factors as predictors of disease-free period in mammary tumors of the dog. *Vet Pathol* 42(2):200-212.
62. Martín de las Mulas, J.M.; Ordás, J.; Millán, M.; Chacón, F.; De Lara, M.; Espinosa de los Monteros, A.; Reymundo, C.; Jover, A. (2004) Immunohistochemical Expression of Estrogen Receptor B in Normal and Tumoral Canine Mammary Glands. *Vet Pathol* 41:269-272.
63. Martín de las Mulas, J.M.; Van Niel, M.; Millán Y.; Ordás, J.; Blankenstein, M.A.; Van Mil F.; Misdorp W. (2002) Progesterone receptors in normal, dysplastic and tumorous feline mammary glands. Comparison with oestrogen receptors status. *Res Vet Sci* 72:153-156.
64. Martín de las Mulas, J.; Ordás, J.; Millán, Y.; Fernández-Soria, V.; Ramón y Cajal, S. (2003) Oncogene HER-2 in canine mammary gland carcinomas: an immunohistochemical and chromogenic in situ hybridization study. *Breast Cancer Res Treat* 80:363-367.
65. Martín, P.M.; Cotard, M.; Mialot, J.P.; André, F.; Raynaud, J.P. (1984) Animal models for hormone-dependent human breast cancer. Relationship between steroid receptor profiles in canine and feline mammary tumors and survival rate. *Cancer Chemother Pharmacol* 12:13-17.
66. Matsuyama, S.; Nakamura, M.; Yonezawa, K.; Shimada, T.; Oashi, F.; Takamori, Y.; Kubo, K. (2001) Expression Patterns of the erbB Subfamily mRNA in Canine Benign and Malign Mammary Tumors. *J Vet Med Sci* 63:949-954.
67. Mc Ewen, E.G.; Withrow, S.J. (1996) Tumors of the mammary glands. En: Withrow SJ, Mc Ewen EG eds, *Small Animal Clinical Oncology 2nd ed, WB Saunders, Philadelphia. 356-372.*
68. McLeod, D.A.; Thrall, D.A. (1989) The combination of surgery and radiation in the treatment of cancer. *Vet Surg* 18:1-6.
69. McRae, G.I.; Roberts, B.B.; Worden, A.C.; Bajka, A.; Vickery, B.H. (1985) Long-term reversible suppression of oestrus in bitches with nafarelin acetate, a potent LHRH agonist. *J Reprod Fertil* 74:389-397.
70. Migliaccio, D.; Piccolo, G.; Castoria, M.; Di Domenico, A.; Bilancio, M.; Lombardi, W.; Gong, M.; Auricchio, F. (1998) Activation of the Src/p21ras/Erk pathway by progesterone receptor via cross-talk with estrogen receptor. *EMBO J* 17:2008-2018.
71. Millanta, F.; Calandrella, M.; Bari, G.; Niccolini, M.; Vannoni, I.; Poli, A. (2005) Comparison of steroid receptor expression in normal, dysplastic, and neoplastic canine and feline mammary tissues. *Res Vet Sci* 79:225-232.

72. Misdorp, W. (1988). Canine Mammary Tumours: protective effect of late ovariectomy and stimulating effect of progestins. *Vet Q* 10:26-33.
73. Misdorp, W. (1991) Progestagens and mammary tumours in dogs and cats. *Acta Endocrinol (Copenh)* 125:27-31.
74. Misdorp, W.; Else, R.W.; Hellmén, E.; Lipscomb, T.P. (1990) Histological classification of mammary tumor of the dog and the cat. Vol VII. Armed Forces Institute of Pathology & American Registry of Pathology & the World Health Organization Collaborating Center for Worldwide Reference on Comparative Oncology, Washington DC, USA. 58-59.
75. Mol, J.A.; Henzen-Logmans, S.C.; Hageman, P.; Misdorp, W.; Blankenstein, M.A.; Rijnberk, A. (1995a) Expression of the gene encoding growth hormone in the human mammary gland. *J Clin Endocrinol Metab* 80:3094-3096.
76. Mol, J.A.; Lantinga-van Leeuwen, I.S.; van Garderen, E.; Selman, P.J.; Oosterlaken-Dijksterhuis, M.A.; Schalken, J.A.; Rijnberk, A. (1999) Mammary growth hormone and tumorigenesis lessons from the dog. *Vet Q* 21:111-115.
77. Mol, J.A.; Selman, P.J.; Sprang, E.P.; van Neck, J.W.; Oosterlaken-Dijksterhuis, M.A. (1997) The role of progestins, insulin-like growth factor (IGF) and IGF-binding proteins in the normal and neoplastic mammary gland of the bitch: a review. *J Reprod Fertil Suppl* 51:339-344.
78. Mol, J.A.; van Garderen, E.; Selman, P.J.; Wolfswinkel, J.; Rijnberk, A.; Rutteman, G.R. (1995b) Growth hormone mRNA in mammary gland tumors of dogs and cats. *J Clin Invest* 95:2028-2034.
79. Morris, J.S.; Dobson, J.M.; Bostock, D.E. (1993) Use of tamoxifen in the control of canine mammary neoplasia. *Gynecol Oncol* 39:82-84.
80. Mote, P.A.; Johnston, J.F.; Manninen T.; Tuohimaa, P.; Clarke C.L. (2001) Detection of progesterone receptor forms A and B by immunohistochemical analysis. *J Clin Pathol* 54: 624-630.
81. Moulton, J.E. (1990) Tumors of the mammary gland. In: *Tumours in Domestic Animals*, 3rd eds. Ed. Moulton JE. University of California Press, Berkeley. 518-552.
82. Neumann, F.; El Etreby, M.F.; Gräf, K.J. (1979) Results of animal experiments on the clinical risks of hormone preparations. *Pharm Unserer Zeit* (3):65-77.
83. Nieto, A.; Pena, L.; Perez-Alenza, M.D.; Sanchez, M.A.; Flores, J.M.; Castano, M. (2000) Immunohistologic detection of estrogen receptor alpha in canine mammary tumors: clinical and pathologic associations and prognostic significance. *Vet Pathol* 37:239-247.
84. Nieto, A.; Pena, L.; Perez-Alenza, M.D.; Sanchez, M.A.; Flores, J.M.; Castano, M. (2000) Immunohistologic detection of estrogen receptor alpha in canine mammary tumors: clinical and pathologic associations and prognostic significance. *Vet Pathol* 37(3):239-247.
85. Nieto, A.; Perez-Alenza, M.D.; Del Castillo, N.; Tabanera, E.; Castano, M.; Pena, L. (2003) BRCA1 expression in canine mammary dysplasias and tumours: relationship with prognostic variables. *J Comp Pathol* 128:260-268.
86. Ogilvie, G.K.; Obradovich, J.E.; Elmslie, R.E.; Vail, D.M.; Moore, A.S.; Straw, R.C.; Dickinson, K.; Cooper, M.F.; Withrow, S.J. (1991) Efficacy of mitoxantrone against various neoplasms in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 198:1618-1621.
87. Okada, H.; Nishuma, Y.; Yoshino, T.; Grone, A.; Capen, C.C.; Rosol, T.J. (1997) Immunohistochemical localization of parathyroid hormone related protein in canine mammary tumors. *Vet Pathol* 34:356-359.
88. Parodi, A.L.; Mialot, J.P.; Martin, P.M. (1984) Canine and feline mammary cancers as animal models for hormone-dependent human breast tumors: relationships between steroid receptor profiles and survival rates. *Prog Cancer Res Ther* 31:357-365.
89. Robinson, G.W.; Hennighausen, L.; Johnson, P.F. (2000) Side-branching in the mammary gland: the progesterone-Wnt connection. *Genes Dev* 14:889-894.
90. Rutteman, G.R. (1990) Hormones and mammary tumour disease in the female dog. An update. *In Vivo* 4:33-40.
91. Rutteman, G.R.; Misdorp, W.; Blankenstein, M.A.; van den Brom, W.E. (1988) Oestrogen (ER) and progestin receptors (PR) in mammary tissue of the female dog: different receptor profile in non-malignant and malignant states. *Br J Cancer* 58:594-599.
92. Sartin, E.A.; Barnes, S.; Kwapien, R.P.; Wolfe, L.G. (1992) Estrogen and progesterone receptor status of mammary carcinomas and correlation with clinical outcome in dogs. *Am J Vet Res* 53:2196-2200.
93. Schneider, R. (1970) Comparison of age, sex, and incidence rates in human and canine breast cancer. *Cancer* 26:419-426.
94. Schneider, R.; Dorn, C.R.; Taylor, D.O.N. (1969) Factors influencing canine mammary cancer development and postsurgical survival. *J Natl Cancer Inst* 43:1249-1261.
95. Selman, P.; Mol, J.; Rutteman, G.; Rijnberk, A. (1994) Progestin treatment in the dog. I. Effects on growth hormone, insulin-like growth factor I and glucose homeostasis. *Eur J Endocrinol* 131:413-421.
96. Shofer, F.S.; Sonnenschein, E.G.; Goldschmidt, M.H.; Laster, L.L.; Glickman, L.T. (1989) Histopathologic and dietary prognostic factors for canine mammary carcinoma. *Breast Cancer Res Treat* 13:49-60.
97. Simon, D.; Schoenrock, D.; Baumgärtner, W.; Nolte, I. (2006) Postoperative adjuvant treatment of invasive malignant mammary gland tumors in dogs with doxorubicin and docetaxel. *J Vet Intern Med* 20:1184-1190.
98. Sloane, J.P.; Amendoeira, I.; Apostolikas, N.; Bellocqi, J.P.; Bianchi, S.; Boecker, W.; Bussollati, G.; Coleman, D.; Connolly, C.E.; Eusebi, V.; Demiguel, C.; Dervan, P.; Drijkoningen, R.; Elston, C.W.; Faverly, D.; Gad A.; Jacquemier J.; Lacerda, M.; Martinez-Penuela, J.; Munt, C.; Peterse, J.L.; Rank, F.; Syvan, M.; Tsakrakides, V.; Zafrani, B. (1999) Consistency achieved by 23 European pathologists from 12 countries in diagnosing breast disease and reporting prognostic features of carcinomas. *Virchows Archiv* 434:3-10.
99. Sobczak-Filipiak, M.; Malicka, E. (2002) Estrogen receptors in canine mammary gland tumours. *Pol J Vet Sci* 5:1-5.
100. Sorenmo, K.; Shofer, F.S.; Goldschmidt, M.H. (2000) Effect of spaying and timing of spaying on survival of dogs with mammary carcinoma. *J Vet Int Med* 14:266-270.
101. Stovring, M.; Moe, L.; Glattre, E. (1997) A population-based case-control study of canine mammary tumours and clinical use of medroxyprogesterone acetate. *APMIS* 105:590-596.
102. Thrall, D.E. (2003) Tratado de diagnóstico radiológico veterinario. Inter-Médica. Buenos Aires. Argentina. 3a. ed.
103. Thuróczy, J.; Reisvaag, G.J.; Perge, E.; Tibold, A.; Szilágyi, J.; Balogh, L. (2007) Immunohistochemical detection of progesterone and cellular proliferation in canine mammary tumours. *J Comp Pathol* 137:122-129.
104. Tsuchida, S.; Ikemoto, S.; Tagawa, M. (2001) Microsatellite polymorphism in inton 14 of the canine BRCA1 gene. *J Vet Med Sci* 63:479-481.
105. van Garderen, E.; de Wit, M.; Voorhout, W.F.; Rutteman, G.R.; Mol, J.A.; Nederbragt, H.; Misdorp, W. (1997) Expression of growth hormone in canine mammary tissue and mammary tumors. Evidence for a potential autocrine/paracrine stimulatory loop. *Am J Pathol* 150:1037-1047.
106. van Garderen, E.; Schalken, J.A. (2002) Morphogenic and tumorigenic potentials of the mammary growth hormone/growth hormone receptor system. *Mol Cell Endocrinol* 29:153-165.
107. van Garderen, E.; Swennenhuis, J.F.; Hellmén, E.; Schalken, J.A. (2001) Growth hormone induces tyrosyl phosphorylation of the transcription factors Stat5a and Stat5b in CMT-U335 canine mammary tumor cells. *Domest Anim Endocrinol* 20:123-135.
108. van Garderen, E.; van der Poel, H.J.; Swennenhuis, J.F.; Wissink, E.H.; Rutteman, G.R.; Hellmén, E.; Mol, J.A.; Schalken, J.A. (1999) Expression and molecular characterization of the growth hormone receptor in canine mammary tissue and mammary tumors. *Endocrinology* 140:5907-5914.
109. Veldhoen, N.; Watterson, J.; Brash, M.; Milner, J. (1999) Identification of tumour-associated and germ line p53 mutations in canine mammary cancer. *Br J Cancer* 81:409-415.
110. Wakui, S.; Muto, T.; Yokoo, K.; Yokoo, R.; Takahashi, H.; Masaoka, T.; Hano, H.; Furusato, M. (2001) Prognostic status of p53 gene mutation in canine mammary carcinoma. *Anticancer Res* 21:611-616.
111. Walker, K.J.; Bouzubar, N.; Robertson, J.; Ellis, I.O.; Elston C.W.; Blamey, R.W.; Wilson, D.W.; Griffiths, K.; Nicholson, R.I. (1998) Immunocytochemical localization of estrogen receptor in human breast tissue. *Cancer Res* 58:6517-6522.
112. Weikel, J.H. Jr.; Nelson, L.W. (1977) Problems in evaluating chronic toxicity of contraceptive steroids in dogs. *J Toxic Environ Health* 3:167-177.
113. Weir, E.C.; Burtis, W.J.; Morris, C.A.; Insogna, K.L. (1998) Isolation of a 16,000-dalton parathyroid hormone-like protein from two animal tumors causing hormonal hypercalcemia of malignancy. *Endocrinology* 123:2744-2751.
114. Wilkinson, G.T. (1971) The treatment of mammary tumors in the bitch and a comparison with the cat. *Vet Rec* 29:13-19.
115. Withrow, S.J. (1975) Surgical management of canine mammary tumors. *Vet Clin North Am* 5:495-506.
116. Yamagami, T.; Kobayashi, T.; Takahashi, K.; Sugiyama, M. (1996) Influence of ovariectomy at the time of mastectomy on the prognosis for canine malignant mammary tumors. *J Small Anim Pract* 37:462-464.