

01621
64



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**DESARROLLO DE TUMORES DE GLÁNDULA MAMARIA
EN LA PERRA, IMPLICACIONES ENDOCRINAS Y DE p53:
ESTUDIO RECAPITULATIVO**

Tesis presentada ante la
División de Estudios Profesionales
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
de la
Universidad Nacional Autónoma de México
para la obtención del título de

MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA

P O R :

ALMA YOLANDA OTERO VARELA

ASESORES:

**MVZ MC DR. en C. MARIO PÉREZ MARTÍNEZ
MVZ. FERNANDO IVÁN FLORES PÉREZ**



MÉXICO, D.F.

2003



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DEDICATORIA

A mis padres, por su amor, dedicación y ejemplo y su apoyo incondicional.

A mi mamá por sus desvelos, su compañía, su tiempo y dedicación y por su disciplina; por tantos sueños, prácticas, ranchos y carreteras compartidas.

A mi hermano por vivir juntos una infancia inigualable y toda una vida compartida, por sus consejos, regaños y consentimientos.

A Mirru, Chacha y Pancho por ser mis tres pequeños amores y estar conmigo en los momentos de soledad.

AGRADECIMIENTOS

A mis abuelitos Alis, Fito, Lulú y Juan Manuel por su cariño, por estar siempre conmigo, por sus pláticas, consejos, risas y apapachos.

A mis tíos Ángel, Chuy, Aidé, Juan, Álvaro, Liz, Alis, Hugo, Alonso y Liz por su apoyo, sus palabras de aliento que me impulsaron a seguir, por su cariño y amistad. En especial a Pinky por ser mi consejera y por todos los momentos gratos que me haces pasar.

A mis primos por los momentos juntos y por su cariño.

A Jesús por ser un gran amigo, por hacerme amena mi estancia en la universidad, por todos sus consejos, por tantas risas y largas conversaciones y por ayudarme siempre; A José Luis por su amistad, sus consejos, su cariño y todas sus atenciones; A Daniela, Teresa, Carlos, Víctor Hugo y Alonso por ser mis amigos y animarme siempre, por haber compartido conmigo tantos momentos; A Juan José por su amistad y por el tiempo que pasamos en la clínica, por todos sus consejos y enseñanzas.

A mi amiga Yahel y a su familia por toda su paciencia y comprensión, por abrirme siempre las puertas de su casa que es mi segundo hogar y por

todo su cariño. A Abis por su amistad, por todos los sueños compartidos y los gratos recuerdos.

A Braulio, Toño, José Luis, Andrés y Jake por las vivencias compartidas, por su amistad y su confianza, en especial a Ricardo, por su amistad de tantos años y por habernos reencontrado.

Al Dr. Mario Pérez por haberme dado la oportunidad de trabajar con él, por su tiempo, su ayuda y sus consejos.

Al MVZ. Iván Flores por su amistad, sus pláticas, por llevarme siempre de la mano en la realización de este trabajo, por todo su tiempo, su ayuda y su paciencia.

A los miembros de mi jurado: MVZ. Joaquín Aguilar Bobadilla, Dr. Enrique Aburto Fernández, M en C. Santiago R. Anzaldúa Arce y al MVZ. Héctor Villaseñor Gaona por el tiempo dedicado a la revisión de la presente tesis.

A los centros educativos que intervinieron en mi formación académica, en especial a mi Facultad.

A todos los aquí nombrados y a todos aquellos que se me escapan de estas líneas, les dedico este trabajo, con mucho cariño.

**Se agradece el apoyo recibido de la DGAPA
(proyecto EF212101) de la UNAM para la
realización de ésta tesis.**

**La presente tesis se realizó en el laboratorio
de Biología Tisular de la Reproducción del
Departamento de Morfología de la FMVZ.**

INDICE

CAPITULOS	PAG.
I RESUMEN	1
II INTRODUCCIÓN.	2
III OBJETIVO.	5
IV PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS DE INFORMACIÓN.	6
V ASPECTOS HISTOLOGICOS DE LA GLANDULA MAMARIA.	8
VI HORMONAS INVOLUCRADAS EN EL CANCER DE GLANDULA MAMARIA EN LA PERRA.	12
VII ESTRUCTURA Y FUNCION BIOLOGICA DE P53: SUS IMPLICACIONES EN CANCER DE GLANDULA MAMARIA EN LA PERRA.	23
VIII POSIBLES APLICACIONES TERAPÉUTICAS BASADAS EN LA UTILIZACIÓN DE HORMONAS Y P53.	38
IX DISCUSIÓN Y PERSPECTIVAS.	43
X APÉNDICE	50
XI LITERATURA CITADA	52

I. RESUMEN

Las hormonas y el gen *p53* desempeñan un papel relevante en la patogenia del desarrollo de neoplasias, específicamente en cáncer de glándula mamaria en perras, la importancia de estas moléculas ha sido reconocida, en el presente trabajo se aporta información actualizada obtenida de revistas científicas de circulación internacional y nacional, así como de fuentes electrónicas de información, en relación a estos campos de estudio básicos y de las posibles aplicaciones en la terapéutica del tumor de glándula mamaria en perras que se considera como una de las neoplasias más frecuente en la especie, adicionalmente se destaca la importancia de la perra como modelo animal de estudio, con la finalidad de encontrar eventualmente una terapia efectiva.

Palabras clave: tumores, glándula mamaria, *p53*, perra, terapia.

II. INTRODUCCIÓN

Actualmente es bien conocido que las enfermedades neoplásicas son un problema frecuente de salud en perras ^{1,2,3}, dentro de éstas se considera que el tumor de glándula mamaria es quizás tres veces más frecuente que en humanos^{1,4}, siendo el 25% de éstos de tipo maligno⁵, aunque existen datos que menciona un 50%^{3,4}.

Este padecimiento se presenta con mayor frecuencia entre los 10 y 11 años de edad en perras,³ ya que las células de las perras seniles han pasado por mas ciclos celulares y han estado expuestas a factores carcinogénicos por mas tiempo⁶; así mismo existen evidencias de que ciertas razas caninas suelen presentar el problema con más frecuencia, por ejemplo, el Braco, Dachshund y Cocker Spaniel, entre otros⁷.

La perra generalmente presenta cinco pares de glándulas mamarias, cada una de éstas, se clasifica desde el punto de vista histológico, como exócrina tubulo-alveolar compuesta^{8,9}, consecuentemente, los factores hormonales resultan esenciales en las diversas etapas del desarrollo fisiológico de la glándula mamaria en la perra, tales como la mamogénesis, lactogénesis y lactancia^{9, 10}.

El desarrollo de tumores de glándula mamaria en la perra se asocia a cambios endocrinos que se presentan durante el ciclo estral⁴, se ha documentado que en perras ovariectomizadas antes del primer estro, la posibilidad de desarrollar dichos tumores es prácticamente nula y llama la atención que se ha informado una incidencia de 0.5% en perras cuya ovariectomía se realizó después del primer estro, y del 8-26% aproximadamente en aquellas que se han intervenido en el segundo estro³.

La proliferación, diferenciación y muerte celular del tejido mamario son regulados en particular por hormonas de tipo esteroidal⁴.

La importancia de los estrógenos ha sido ampliamente reconocida en el desarrollo de diversos tipos de tumores de glándula mamaria e incluso ya se ha informado de la existencia de receptores a estas hormonas en los tumores de diversas razas caninas^{11,12,13,14,15} con la finalidad de que la detección de estos sirva para proponer un pronóstico y recomendar un tratamiento¹³.

En los tumores de glándula mamaria se ha descrito que un gen denominado p53, que codifica para una proteína del mismo nombre, es el encargado de llevar a cabo dos funciones biológicas relevantes a nivel celular, tales como la inducción de apoptosis y el arresto del ciclo celular^{15, 16, 17}.

Asimismo, diversos estudios se han llevado a cabo en tumores de glándula mamaria de perras con el propósito de evaluar la presencia de esta proteína, así como de sus modificaciones, logrando establecer de esta manera un diagnóstico e incluso un pronóstico más adecuado^{18, 19}.

Desde el punto de vista de la epidemiología molecular las mutaciones de éste gen en pacientes humanos con tumor de glándula mamaria son las más frecuentes^{15,17,20}.

Se ha establecido que la proliferación descontrolada de las células y la alteración de mecanismos de inducción de muerte celular programada ó apoptosis son factores importantes en la aparición de neoplasias. Lo anterior puede ser atribuido a factores físicos, químicos o biológicos²¹.

Existen múltiples propuestas para el tratamiento contra el cáncer, en las que el uso de hormonas ha sido utilizado, y a nivel experimental, el restablecimiento de la función del gen *p53*^{22, 23, 24, 25}.

El tumor de glándula mamaria en perras también puede ser considerado como un modelo animal de estudio para la enfermedad^{1, 3}.

III. OBJETIVO

Revisar la literatura científica publicada sobre el desarrollo de tumores de glándula mamaria en la perra, y sus implicaciones endocrinas y las de *p53* con la finalidad de aportar y analizar la información más reciente y actualizada.

IV. PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS DE INFORMACIÓN

La revisión de la literatura más reciente se llevó a cabo utilizando la base de datos denominada "Pubmed", la base de datos de acceso a revistas electrónicas del Instituto de Biotecnología de la UNAM que se encuentran en Internet y en el Banco de Información de la Biblioteca de la FMVZ. Estas bases de datos cuentan con revistas científicas de circulación internacional.

La selección de la información se llevó a cabo revisando, analizando y clasificando cada uno de los artículos obtenidos. Una vez seleccionados fueron discutidos. Es necesario destacar que la revisión comprendió los artículos existentes en un periodo comprendido entre 1990 y 2003; asimismo, se utilizaron palabras clave específicas para hacer la revisión.

Además en la biblioteca de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM, se llevó a cabo una revisión de las tesis de licenciatura y de posgrado que tengan alguna relación directa con el tema, para ello se utilizaron los sistemas computarizados propios de la biblioteca. Esta revisión se hizo con énfasis en las tesis presentadas en los últimos cinco años.

A continuación se mencionan algunas revistas que fueron consideradas para la revisión: J. Vet. Med. Sci, Veterinary Pathology, Endocrinology, American Journal Of Veterinary Research, Veterinary Immunology and Immunopathology, Oncogene, entre otras, de igual manera se citan algunas palabras claves que se utilizaron para la búsqueda electrónica: "canine mammary tumors and *p53*", "mammary tumors and *p53*", "*p53* and apoptosis", "*p53* and cancer", "cancer and hormones", "*p53* and hormones", "*p53*", "mammary neoplasm", "mammary tumors", "mutations and *p53*", "apoptosis", "cancer", "tumor suppressor", "parathyroid hormone and cancer", "estrogen and cancer".

Una vez que la información obtenida fue revisada y analizada se procedió a su organización y clasificación con base en el temario previamente establecido.

V. ASPECTOS HISTOLÓGICOS DE LA GLÁNDULA MAMARIA

La glándula mamaria desde el punto de vista histológico se puede clasificar como una glándula exocrina tubo alveolar compuesta que se encarga de la producción de leche^{10, 26, 27}.

En su interior, la glándula mamaria posee tejido conjuntivo denso irregular en una disposición capsular, el cual emite trabeculas hacia el interior del parénquima, lo que provoca una división en lóbulos y lobulillos con estructuras que se pueden clasificar como glándulas tubo alveolares compuestas^{10, 26, 27}.

La glándula mamaria, de acuerdo a su etapa fisiológica puede estar en fase de lactación o de reposo. A lo largo de la etapa de lactación el parénquima de la glándula mamaria aumenta, esto es comprensible ya que se necesita una mayor cantidad de tejido glandular para la síntesis de leche, y mayor espacio para su almacenamiento. En esta fase también el tejido conjuntivo es menos abundante, la presencia de alvéolos y tubulos secretorios, revestidos por un epitelio simple cilíndrico con vesículas secretoras que tienen la característica de acumularse, las cuales confieren un aspecto “espumoso” a las células, que se desprenderán para formar parte de los elementos constitutivos de la secreción láctea; que se encuentra en los alvéolos mamarios que vierten su contenido a los conductos intralobulillares, revestidos de epitelio cuboide y a los conductos lobulares

de epitelio cilíndrico biestratificado donde permanece almacenada la leche^{10,26,27}.

Donde se almacena la mayor parte de leche es en la cisterna glandular que está separada por el seno de la teta como tal y cuyo tamaño es variable, este ducto o conducto galactóforo se continua al exterior de manera lineal terminando en un orificio, en este se da una transición a epitelio estratificado^{10,26,27}.

Cuando la glándula mamaria se encuentra en estado de reposo el primer cambio más evidente es la reducción en su tamaño, debido a que la cantidad de tejido que conforma el parénquima disminuye y se observa abundante tejido conjuntivo laxo areolar, acompañado de tejido adiposo^{10, 26, 27}.

Los tumores de glándula mamaria son sumamente heterogéneos desde un punto de vista histológico y clínico, por esta razón la OMS los cataloga como malignos y benignos; dentro de los benignos encontramos al adenoma ya sea simple, complejo o basaloide, al fibroadenoma con alta o baja celularidad, al tumor mixto benigno y al papiloma ductal; y dentro de los malignos o también llamados cánceres se encuentran el carcinoma *in situ*, el carcinoma complejo, el carcinoma simple ya sea tubulopapilar, sólido u anaplásico; carcinomas especiales como carcinoma de células

escamosas, fusiformes, mucinoso, el carcinoma rico en lípidos y los diferentes tipos de sarcomas: fibrosarcoma y osteosarcoma, entre otros²⁸.

La actividad biológica que presentan los diversos tipos de tumores de glándula mamaria se encuentra bien definida; en porcentaje se ha observado que dentro de los tumores que se presentan de manera más frecuente en la perra están el adenoma 50%, benigno con atipia 30%, carcinoma *in situ* 5% y el invasivo 15% y que entre un 20 y 90% de los tumores malignos a dos años del tratamiento quirúrgico son recurrentes o incluso causantes de muerte en la perra, dependiendo del grado de malignidad^{29, 30, 31}.

Se considera que el tumor ha invadido vasos linfáticos dérmicos cuando se observan signos de inflamación en piel y tejidos adyacentes, por ejemplo, edema; a este tipo de hallazgos se les puede relacionar con un pronóstico sumamente desfavorable en el caso de la perra, ya que estos signos son sugestivos de lesiones metastásicas regionales o distales que después de un estudio histopatológico podrían confirmar la malignidad del tumor^{29, 30, 31}.

Los sitios anatómicos más frecuentes hacia los cuales migran las células tumorales de la glándula mamaria en perras son: pulmones, hígado, hueso, riñón, ojos y nódulos linfáticos regionales o distales, dicha

migración que recibe el nombre de metástasis se puede detectar por medio de exámenes histopatológicos^{29, 30, 31}.

VI. HORMONAS INVOLUCRADAS EN CANCER DE GLANDULA MAMARIA EN LA PERRA

El desarrollo de cáncer de glándula mamaria posee una marcada relación con la acción de las hormonas, a tal grado que los tumores pueden ser clasificados en dos categorías: dependientes de hormonas y no dependientes^{32, 33, 34}.

En la mujer, por ejemplo, el uso de estrógenos en etapa postmenopausica esta asociado con un incremento en el riesgo de tumores asociados a hormonas^{35,36}. La incidencia del cáncer mamario se incrementa solo después del uso prolongado de estrógenos³⁵. Asimismo el aporte de energía y el balance energético puede influenciar la fisiología ovárica y las concentraciones de estrógenos ováricos y progesterona producida durante el ciclo menstrual^{35,36}. Se ha hipotetizado que los estrógenos y la progesterona desempeñan un papel relevante en el desarrollo de cáncer de mama en la mujer. Se considera que las mujeres de poblaciones con un alto riesgo de cáncer mamario presentan comparativamente altas concentraciones de hormonas esteroides ováricas³⁶.

Por otra parte, existen tumores cuyo desarrollo se ha vinculado con el periodo de celo en la perra, y se ha observado que éste tipo de tumores crecen con notable rapidez^{29, 30, 31}.

En el caso de los tumores dependientes de hormonas, éstas presentan receptores a una o varias hormonas, como estrógenos, progesterona, andrógenos, prolactina y corticoides^{32, 33, 34}. Específicamente en los tumores de glándula mamaria los receptores a las hormonas antes mencionadas han sido evidenciados y se sabe que la función de las mismas es contribuir al crecimiento y proliferación tumoral^{32, 33, 34}.

En los tumores no dependientes de hormonas (independientes), el receptor no está presente, por lo que, no requiere de hormonas para la proliferación y crecimiento de la masa tumoral³⁷.

La importancia de saber si un tumor es o no dependiente de hormonas radica en que esto determina el criterio para elegir una terapia, siendo más agresivos los tumores que no poseen receptor a hormonas, en comparación con los que lo presentan^{13, 22}.

El desarrollo de la glándula mamaria requiere de hormonas tales como los estrógenos y la progesterona³⁸ (Figura 1). Los estrógenos tienen el efecto de inducir crecimiento ductal y la progesterona se encarga de estimular el crecimiento de los alvéolos; ambas hormonas son de tipo esteroidea; se sabe que la presencia de las dos es suficiente para el crecimiento de la glándula mamaria. Sin embargo, para una adecuada diferenciación del tejido epitelial glandular que compone a

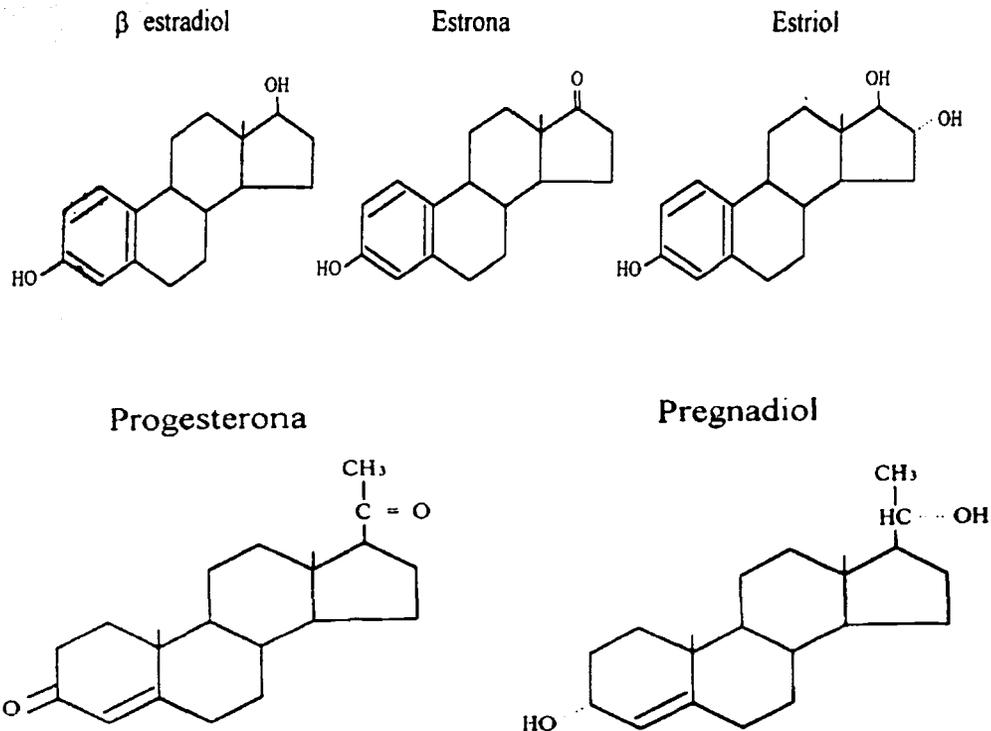


Figura 1: Estructura tridimensional de las hormonas relevantes en cáncer de glándula mamaria.

esta estructura es necesaria la presencia de otras hormonas tales como: cortisol, prolactina y hormona del crecimiento entre otras^{37, 39} .

En perras específicamente se ha detectado una menor presencia de receptores a progesterona cuando el tumor posee más células en proliferación lo que apoya la idea de que si un tumor es no dependiente de hormonas, es decir, es autónomo para su proliferación, se considera como más peligroso en términos de poder proliferar en menor tiempo y poder invadir otros órganos³³.

Los estrógenos y la progesterona son hormonas sexuales de tipo esteroidal, que tienen como precursor común al colesterol. Los ovarios, la placenta, y en menor proporción la corteza adrenal son tejidos que están provistos de las enzimas necesarias para sintetizar tanto a la progesterona como a los estrógenos⁴⁰.

A nivel celular para que las hormonas puedan actuar, deben poder atravesar la membrana citoplasmática (Figura 2), lo cual dada su característica de ser liposolubles se lleva a cabo, para posteriormente acoplarse a su receptor que la mayoría de las veces esta localizado en el núcleo y algunos se encuentran localizados en el citoplasma, en este caso, una vez que se lleva a cabo la asociación entre la hormona y su receptor, se forma el complejo ligando receptor⁴⁰.

Posteriormente este complejo tiene la capacidad de dirigirse al interior del núcleo celular, para ello, debe ser transportado a través de la membrana nuclear, acoplándose

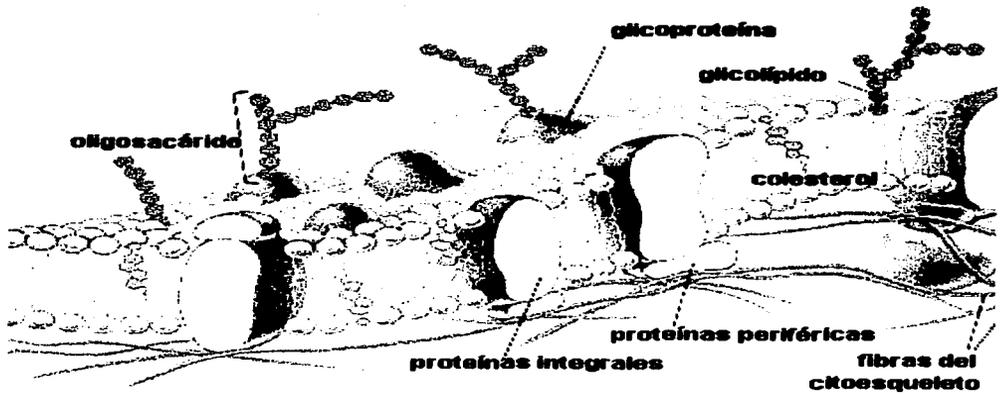


Figura 2: Membrana Citoplasmática. ^P

^P Tomado de Silva A, et all, 2002 (70).

específicamente en una secuencia promotora existente en el ADN llamada elemento de respuesta hormonal, que provocará que ciertos genes específicos involucrados en la transcripción sean expresados; es por ello que se dice que el complejo ligando receptor actúa como un factor específico de la transcripción genética; Este proceso en su conjunto se conoce como cascada de señalización (Figura 3)^{40, 41, 42}.

Para que las hormonas induzcan proliferación celular, se requiere que estén presentes en concentraciones mínimas. La densidad de receptores presentes en una célula tumoral es variable, ya que las proteínas que los constituyen son susceptibles de ser degradadas^{40, 41, 42}.

En estudios llevados a cabo en perras se han utilizado diversas metodologías para poder evaluar el grado de proliferación en los tumores, que van desde la utilización de técnicas histológicas de rutina para identificar mitosis, hasta la valoración de la fase del ciclo celular mediante técnicas de inmunohistoquímica cuyo objetivo es evaluar la presencia del antígeno de proliferación celular Ki-67. El anticuerpo que reconoce a éste antígeno nuclear expresado solo en las fases G1, S, G2 y M del ciclo de proliferación celular, marca o tiñe únicamente la fracción de células en crecimiento, indicándonos el grado de actividad proliferativa; un mayor porcentaje de proliferación (mayor porcentaje de núcleos teñidos en la prueba) significa un mal pronóstico. ^{11, 13, 14, 33}.

Una vez, que las hormonas han cumplido su función, son metabolizadas y eliminadas principalmente por vía hepática y renal^{40, 43}.

Los principales estrógenos ováricos son estradiol, estrona y estriol^{43, 44, 45}, estos actúan en: útero, vagina, tubas uterinas, adenohipofisis, hipotálamo y glándula mamaria⁴⁰.

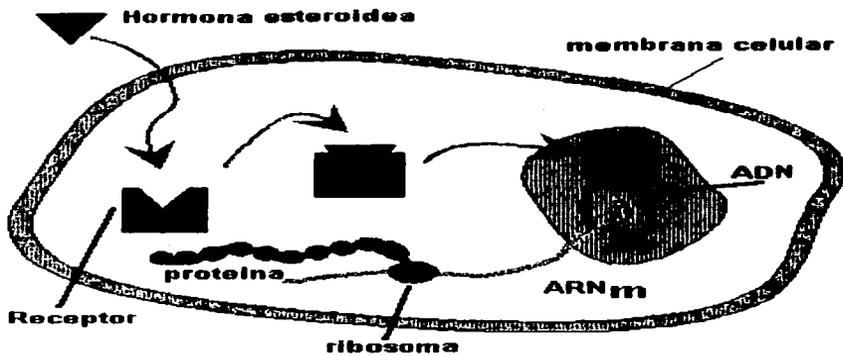


Figura 3: Mecanismo de cascada de señalización cuando el receptor esta ubicado en el citoplasma. ⁹

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

⁹ Tomado de Silva A, et all, 2002 (70).

En el estudio de la patogenia del cáncer de glándula mamaria se ha identificado que los estrógenos favorecen la proliferación celular tanto en humanos como en perros, por lo que se ha informado un decremento en la presentación de tumores de glándula mamaria en perras que han sido ovariectomizadas^{4, 33, 46}.

En humanos se han identificado dos isoformas del receptor a estrógenos: β y α , en perros ya se han hecho ensayos de inmunohistoquímica con el objeto de localizar el receptor a estrógenos α . Este último posee una localización nuclear por lo cual las células positivas al mismo se colorean en su núcleo¹³.

La progesterona es una hormona que se sintetiza en el cuerpo lúteo, en la placenta y en menor cantidad en la corteza adrenal⁴³.

Esta hormona se encuentra en la sangre en concentraciones bajas y, cuando es metabolizada se elimina principalmente por la orina. En general su función, es contribuir a la implantación del embrión en la pared uterina, además de ser de importancia en el desarrollo del sistema alveolar en la glándula mamaria^{40, 43}.

En el caso específico de los tumores de glándula mamaria en la perra existen datos que indican la presencia de Receptores a Estrógeno y Receptores a Progesterona en aproximadamente un 50% de los casos¹³.

En el año 2000 se validó en un estudio hecho en perras, la utilización de la técnica de inmunohistoquímica para la localización de receptores de progesterona en esta especie³³. En este estudio se trató de establecer la posible correlación de éste receptor con la presencia del antígeno de proliferación nuclear (PCNA), concluyendo que en los tumores positivos al receptor de progesterona la frecuencia de proliferación es menor, observándose lo contrario en los casos con nula o escasa presencia del receptor ³³. Esto puede ser debido a que a diferencia de los estrógenos, la progesterona tiende a disminuir la proliferación celular⁴⁰.

Precisamente de esta conclusión se desprende la utilidad diagnóstica de localizar en el tumor la existencia del receptor de progesterona ya que con base en esto el tumor será maligno en mayor o menor grado.

VII. ESTRUCTURA Y FUNCION BIOLÓGICA DE *p53*: SUS IMPLICACIONES EN CÁNCER DE GLÁNDULA MAMARIA EN LA PERRA.

Desde hace aproximadamente 25 años una proteína con peso molecular de 53 kilodaltones (kd) fue identificada en células transformadas con el virus sv -40. A partir de este suceso el estudio de las implicaciones funcionales de la proteína P53 han sido de gran importancia, iniciándose una búsqueda incansable para tratar de entender y determinar los fenómenos biológicos en los que esta proteína está involucrada. Actualmente se sabe que el gen que codifica para la proteína P53 presenta mutaciones en más del 50% de los pacientes humanos que padecen ciertos tipos de cáncer, como el, de pulmón, esófago, páncreas, ovario, esófago, colon y recto, cabeza y cuello, estómago, vejiga urinaria, mama, próstata y los astrocitomas entre otros; 15, 16, 17.

En el caso específico de los perros se han encontrado mutaciones en el gen *p53* en varios tipos de tumores como en la glándula mamaria, linfoma, retinoblastoma, osteosarcoma, carcinoma de tiroides, piel, carcinoma de células escamosas orales y conjuntivales, papilomas, carcinoma intestinal, hemangiosarcoma, mastocitomas, colon, ovario y testículo, entre otros 47.

48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60.

En un estudio llevado a cabo con tumores de glándula mamaria en perras, por medio de PCR fue posible caracterizar mutaciones en el gen *p53* en diferentes tipos histológicos benignos y malignos (Figura 4)¹⁹.

El gen *p53* se encuentra localizado en el cromosoma 17 y esta compuesto de 11 exones que codifican para una proteína nuclear de 393 aminoácidos, la cual contiene cuatro dominios estructurales funcionales^{15, 16, 17}.

Al extremo amino, que comprende del aminoácido 1 al 42 se le considera como el dominio de transcripción ya que es precisamente esta región la que actúa como factor de transcripción^{15, 16, 17}.

La región central de la proteína que abarca del aminoácido 102 al 292, constituye el dominio de unión e interacción con el ADN; en ésta región es en la que ocurren la mayoría de las mutaciones que han sido caracterizadas en humanos^{15, 16, 17}.

TUMOR	EXON	CODON	MUTACIÓN (AMINOÁCIDOS)
Adenoma complejo	7	IV	CGG- TGG (Arg- Trp)
Adenoma complejo	5		AGC- AGA (Ser- Arg)
Tumor benigno mixto	8	V	GAG- GTG (Glu- Val)
Adenoma complejo	7	IV	GGC- GAC (Gly- Asp)
Adenocarcinoma tubular complejo	5	III	CGC- TGC (His- Ala)
Adenocarcinoma tubular complejo	7	IV	CGG- TGG (Arg- Trp)
Adenocarcinoma tubular simple	5		ATC- TTC (Ile- Phe)
Adenocarcinoma tubular simple	7	IV	GGC- GAC (Gly- Asp)
Adenocarcinoma papilar	7	IV	CTC- TTC (Leu- Phe)
Adenocarcinoma tubular simple	5	III	GAA- TAA (Glu- stop)

Figura 4: Mutaciones en los exones del 5-8 del gen *p53* en neoplasias de glándula mamaria en perras. ♥

Modificado de Muto T, et all, 2000. (19)

El dominio de tetramerización, que comprende del aminoácido 324 al 360 aproximadamente, será el encargado de llevar a cabo el proceso de dimerización. Finalmente, el dominio que comprende del aminoácido 367 al 393, esta involucrado en la regulación alosterica de la unión del dominio central de la proteína P53, misma que se produce de manera específica con base en dicha secuencia^{15, 16, 17, 23} (Figura 5).

En el caso específico de los perros el gen *p53* tiene dentro de su secuencia aproximadamente 1130 nucleótidos y se encuentra constituido por 11 exones ⁶¹ (figura 6).

En la secuencia de aminoácidos que codifica para la proteína P53 se pueden distinguir cinco dominios que se consideran como altamente conservados entre las especies, ya que guardan un alto grado de similitud, sin importar si la proteína P53 proviene de perro, humano o ratón. Es necesario mencionar que el número total de aminoácidos que constituyen a la proteína es distinto entre las especies antes mencionadas, en el caso del perro son 381 aminoácidos, en el humano 393 y 390 en el ratón⁶¹ (Figura 7).

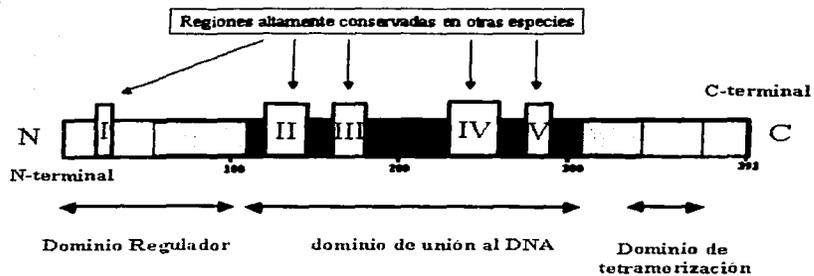


Figura 5: Dominios funcionales de la proteína P53^P

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

^PTomado de Silva A, et al, 2002 (70).

Con respecto al grado de similitud de la proteína P53 entre éstas especies, se sabe que en el perro hay un 81% de identidad en comparación al producto del gen en humanos y es similar en un 72% con los ratones⁶¹.

El producto del gen *p53* funciona como un factor de transcripción que esta involucrado en la regulación de diversos genes relacionados con el arresto del ciclo celular; un factor de control en la transición de la etapa G1 a S, que como bien se sabe es un momento decisivo para la proliferación celular^{15, 16}.

Además participa en los procesos de reparación del ADN ya que codifica para una proteína nuclear que interacciona con el ADN y que ejerce su efecto anti-oncogénico, al inducir la transcripción de otro gen regulador que produce una proteína que evita la progresión de la fase S y por lo tanto la duplicación del ADN y en caso de existir alguna mutación que no pueda ser reparada eventualmente puede ocurrir la muerte celular por apoptosis^{15, 16}.

El gen *p53* ha sido caracterizado en varias especies como la rata, humano, ratón, perro, bovinos y gatos, entre otros, observándose que su secuencia y función es parecida principalmente en los exones del 5 al 9, por lo cual como se mencionó anteriormente se le considera como un gen altamente

conservado entre las especies, desde un punto de vista evolutivo, estructural y funcional^{15, 16, 23, 62}.

La función del gen *p53* se encuentra en estrecha relación con las respuestas que sean exhibidas por parte de la célula al ser sometida a estímulos físicos, químicos o biológicos, capaces de causarle "estrés"⁶³.

Esta respuesta a nivel celular es compleja y extensa, y en ella se pueden observar la existencia de eventos tales como el arresto del ciclo celular, activación de mecanismos de reparación genética e inducción de apoptosis. Todos estos procesos se encuentran regulados de manera precisa por el genotipo celular (la información genética que contenga) y el ambiente extracelular que prevalezca, es precisamente esta dicotomía la que se encarga de ejecutar dichos procesos^{63, 64}.

El gen *p53* se considera como un componente esencial en la respuesta al estrés celular, ya que éste implica la inducción de daño específicamente a nivel de ADN, suceso que activa en este caso la expresión de *p53*.

Es necesario aclarar que en condiciones de homeostasis celular la proteína P53 se encuentra en niveles de expresión basales y cuando estímulos como la radiación gamma, radiación U.V, hipoxia y depleción de nucleósidos, entre otros factores que pueden afectar a la célula, su expresión se incrementa de manera considerable^{15, 16, 17, 63, 64}.

Una vez que la proteína P53 se encuentra en niveles adecuados, se une al ADN que ha sido lesionado, usando para este fin el dominio específico de unión a ADN con el que cuenta; en esta etapa la proteína P53 tiende a estabilizarse, y obtiene de esta manera una vida media más elevada; es evidente que la función de *p53* es mantener la estabilidad del material genético, independientemente de que sean situaciones de inestabilidad generadas por estímulos externos o de manera espontánea en la célula^{15, 16, 17}.

Como consecuencia a un daño al ADN promoverá, en células normales, un arresto en la progresión del ciclo celular; de manera específica en los puntos de restricción que se encuentran en la transición de las fases G1-S y G2-M^{15, 16, 17, 65}. Se sabe que *p53* es relevante en el punto de restricción que se encuentra en la fase M del ciclo celular, ya que al contribuir a mantener la ploidía y el número de centrosomas, evita que exista inestabilidad genómica^{15, 16, 17}.

El gen *p53* es capaz de inducir apoptosis que es un tipo de muerte genéticamente programada- sin embargo, algunos de los mecanismos por los cuales este gen es capaz de inducirla, se conocen desde hace poco tiempo⁶⁶.

Se conoce que el gen *p53* tiene la capacidad de activar a ciertos genes proapoptóticos, es decir inductores de apoptosis, como son la familia *bcl-2* (*bax*, receptor de muerte, *fas /apo1*) (ver apéndice), los cuales fueron los primeros en ser descubiertos^{15, 16, 17, 23}.

Se conocen prácticamente dos vías por las cuales el gen *p53* puede inducir apoptosis: una que depende del gen *bax* (ver apéndice) y otra que depende del receptor Fas/*apo1*^{15, 16, 17, 23, 63, 64}.

bax es un gen que pertenece a la familia *bcl-2* (ver apéndice), la cual puede ser dividida básicamente en dos componentes, aquellos genes que inhiben muerte celular, es decir antiapoptóticos, como son *bcl-2*, *bcl-xl*, *bcl-w* y *ced-9* (ver apéndice); así como, los proapoptóticos, que son *bax*, *bad* y *bid* (ver apéndice).

Esta familia es capaz de heterodimerizarse y tal parece que a nivel celular, la decisión de morir o no morir radica en las concentraciones de los productos de estos genes, en otras palabras, si existe más cantidad de proteínas proapoptóticas la célula morirá, si existe una mayor cantidad de proteínas antiapoptóticas la célula vivirá^{16, 17, 23, 63, 64}.

Una vez establecido este mecanismo de muerte o supervivencia, cuando *P53* se incrementa activará a *bax*, lo que provocará que a nivel de la

mitocondria sea liberado al exterior el citocromo C (ver apéndice), el cual actúa como un cofactor dependiente de ATP (*apaf-1*), que es el homólogo del gen *ced4*. Finalmente el Apaf-1 (ver apéndice) tendrá la capacidad de activar a la caspasa 9 (caspasa iniciadora), la cual por si sola podrá activar a un grupo de cisteina proteasas conocidas como caspasas (ver apéndice) efectoras 3,6 y 7, cuya función será degradar prácticamente todas las estructuras de la célula, y no debe olvidarse que estas caspasas activan a la enzima ICAD (ver apéndice), la cual es una endonucleasa que posee la capacidad de degradar al ADN en fragmentos de 180-200 pares de bases y sus múltiplos, lo que dará como resultado una fragmentación del ADN en patrón de escalera o nucleosomal^{23, 66}.

Con la finalidad de entender como actúa *bax*, se han utilizado timocitos obtenidos de ratones knockout, que al ser sometidos a radiación gamma se mueren por apoptosis, lo que demuestra que existen vías de apoptosis dependientes de *p53* que no requieren de *bax*^{15, 16, 17, 23, 63, 64}.

La segunda vía de inducción de apoptosis es dependiente de Fas/apo1, que es un receptor que se distingue por tener dominios extracelulares constituidos en buena parte por el aminoácido cisteína y por poseer un dominio intracelular que recibe el nombre de "dominio de la muerte"^{15, 16, 17, 23, 63, 64}.

De esta manera cuando el receptor Fas/apo1 se une a su ligando FasL, el receptor se tetrameriza y su dominio intracelular tiene la capacidad de activar al dominio de muerte intracelular, el cual recluta a la proteína adaptadora "Fas associated death domain (FADD) (ver apéndice)"; esta proteína posee un dominio efector de muerte que se denomina Death Effector Domain (DED), el cual recluta a la caspasa 8, y forma un complejo inductor de muerte. Posteriormente, la consecuencia es la activación de la caspasa 8 que promoverá la activación de las caspasas efectoras, y estas serán las encargadas de degradar las estructuras celulares proteicas y de activar a la endonucleasa que degrada al ADN^{15, 17, 23, 63, 64}.

El gen *p53* posee la capacidad de incrementar la expresión del receptor Fas/apo1. la familia de receptores TNF (ver apéndice), se sabe que ciertos dominios de muerte como KILLER/DR5 (ver apéndice) son activados por *p53*. Finalmente se ha documentado que *p53* posee la capacidad de inducir apoptosis al promover la expresión de la familia de genes PIG'SI (*p53* induced genes) o genes inducidos por *p53*, de los cuales todavía no se sabe como actúan^{15, 16, 17, 23, 63, 64}.

La estructura y función de *p53*, ya fue descrita, sin embargo es importante hacer hincapié en la capacidad que tiene de poder detener la progresión de un tumor afectando el ciclo celular de las células tumorales,

para conseguirlo la estrategia específica que utiliza es afectar interrumpiendo la progresión del ciclo celular^{15, 16, 17, 23, 63, 64}.

En términos generales el inicio de un proceso tumoral es desencadenado por una gran variedad de factores de diversa naturaleza, pero independientemente del factor que los origine todos inciden de manera directa o indirecta en provocar daño al ADN²¹.

El propósito de arrestar o detener la progresión en la fase del ciclo celular G1-S es el permitir que los mecanismos de reparación de ADN actúen. para el caso del arresto inducido en el punto de restricción G2-M el propósito es distinto ya que aquí lo que se pretende es llevara a cabo un proceso de segregación del ADN cromosómico dañado^{23, 63, 64}.

La capacidad que el gene *p53* tiene de detener la progresión del ciclo celular en el punto G1- S, fue observado al someter a radiaciones ionizante diversas líneas celulares que contaban con el gene *p53* funcional y sin mutar, se observó que estas detenían su ciclo celular, posteriormente se comparó con lo observado en células que carecían de un *p53* funcional , en las cuales la progresión del ciclo continuaba.

En un estudio donde se utilizaron fibroblastos humanos con un *p53* funcional y fibroblastos infectados con retrovirus que expresan la proteína

E-6 del virus del papiloma humano que promueve la degradación del gen *p53* por la vía de la ubiquitina. Se utilizaron células con un *p53* no funcional, se demostró que la radiación ultravioleta a las 48 horas post irradiación detenía alrededor de un 80% de la células en el punto G1-S, este fenómeno de arresto en la progresión del ciclo celular en este punto de restricción fue monitoreado mediante citometría de flujo, sin embargo , el arresto en el ciclo celular también se evidenció en células deficientes de *p53*, por lo cual se propone que hay mecanismos dependientes e independientes de *p53*, para provocar el arresto del ciclo celular⁶⁵.

Así mismo los resultados en conjunto sugieren que la señal para la estabilización de *p53* es precisamente el ADN que no ha sido reparado y que finalmente esto provoca el arresto del ciclo celular en el punto de restricción G1-S^{15, 16, 17, 23}.

Al sobre expresarse *p53* por el daño al ADN, se activará la expresión de otros genes como es el gene *gadd 45* que interactúa con antígeno de proliferación nuclear (PCNA) para detener la fase de síntesis de ADN, el gene *p53*, promueve la expresión del *p21*- también llamado *waf*- el producto de este gen tiene la capacidad de interaccionar con las quinasas dependientes de ciclinas o *cdks* (ver apéndice), que son fundamentales para la progresión del ciclo celular^{15, 16, 17, 23}.

VIII. POSIBLES APLICACIONES TERAPEUTICAS BASADAS EN LA UTILIZACIÓN DE HORMONAS Y DE p53

La etiología del cáncer de glándula mamaria esta relacionada con múltiples factores que se encuentran en estrecha relación con la interacción existente entre los llamados oncogenes, los genes supresores de tumores y las hormonas; todos ellos son factores que al interaccionar entre si pueden alterar el microambiente celular y modificar el comportamiento biológico, molecular y funcional de la célula así como del tejido al que constituye^{29, 30, 31}.

Se han desarrollado diferentes terapias hormonales para el tratamiento de cáncer mamario. Diversos agentes nuevos están siendo probados para el tratamiento del cáncer mamario en la etapa metastásica.

El tamoxifen ha constituido el tratamiento hormonal antiestrogénico preferido para el cáncer mamario en los últimos 30 años, ya que compete e inhibe la unión del estradiol con su receptor específico de las células provenientes de un tumor dependiente de estrógenos⁶⁷; éste es un antiestrógeno no esteroidal. El tamoxifen ejerce efectos estrogénicos benéficos sobre la densidad ósea y en los lípidos séricos pero tiene efectos estrogénicos desfavorables en el endometrio. Los efectos antiestrogénicos del tamoxifen en el tejido mamario tiende a su uso en el tratamiento de

cáncer mamario por lo que constituye la terapia establecida para todas las etapas de éste tipo de neoplasias. Sin embargo, el hallazgo de cáncer endometrial que resulta del tratamiento con tamoxifen ha hecho que los científicos investiguen nuevos agentes que conserven las propiedades estrogénicas favorables en tejidos específicos y presenten actividad antiestrogénica en el endometrio²².

Este enfoque ha generado el concepto de moduladores de receptor estrogénico selectivo que media tanto los efectos agonistas estrogénicos o los efectos antagonistas estrogénicos en diferentes tejidos²².

El futuro de los moduladores de receptor estrógeno selectivo dependerá de la mejor comprensión que se logre de varios mecanismos de modulación del receptor estrogénico y si estos inducen los efectos deseados en los tejidos específicos o en los órganos²².

Existen al menos dos tipos diferentes de receptores a estrógenos. Los receptores α predominan en la glándula mamaria y en el útero, y los receptores β predominan en tejido óseo y en vasos sanguíneos²². Asimismo, muchas proteínas interactúan con estos receptores para funcionar como coactivadores o correpresores de los receptores.

Actualmente se están desarrollando nuevas estrategias para las terapias antiestrogénicas y terapias inhibitoras de la aromatasa²².

Dentro de las nuevas terapias hormonales para el cáncer de mama se citan como agentes antiestrogénicos no esteroideos a los siguientes:

Toremifeno (Fareston), Idoxifeno, Drolocifeno, TAT-59, Zindoxifeno, Trioxifeno, Raloxifeno (Evista). Como agentes antiestrogénicos esteroideos: ICI 182,780 (Faslodex) y EM-800²².

Así mismo existen inhibidores de la aromatasa de tipo no esteroideos, como: Anastrozole (Arimidex), Letrozole (Femara) y Vorozole (Rivizor) e Inhibidores de la aromatasa de tipo esteroideo como: Formestane (Lentaron) y Exemestane²².

Dentro de las perspectivas terapéuticas dependientes de *p53* podemos observar que cuando los mecanismos de la muerte celular programada por apoptosis no se activan de manera adecuada, se favorece la generación de tumores, ya que una finalidad importante del proceso de apoptosis es la eliminación de células viejas o que han cumplido su función. Así mismo el proceso de apoptosis elimina a las células que poseen alguna mutación en su ADN, evitando que estas al dividirse transmitan estos defectos en el ADN²³.

De igual manera, las deficiencias en el proceso de apoptosis favorecen la existencia de metástasis en las neoplasias⁶⁶. Cuando se evalúan otras terapias para el cáncer de glándula mamaria y las neoplasias en general que no estén basadas únicamente en la eliminación quirúrgica de la masa tumoral, se debe pensar en estrategias que estén basadas en inducir el fenómeno de apoptosis, dentro de estas propuestas destacan las que se basan en el restablecimiento de la función del gene *p53*^{23, 25}.

En el caso de un tumor de glándula mamaria que fue originado por una mutación de *p53*, no podrá ser sensible a radiaciones o su sensibilidad se verá disminuida por la falta de funcionalidad de la proteína; también se ha documentado la ineficacia o poca efectividad de ciertas drogas cuando *p53* esta mutado, sin embargo, y afortunadamente para los pacientes hay drogas que pueden actuar aun a pesar de que *p53* no tenga funcionalidad^{23, 25}.

Por este motivo las propuestas terapéuticas basadas en *p53* proponen el restablecimiento de su función, ya que al restaurar su actividad, se devuelve el potencial de las células tumorales para experimentar apoptosis^{23, 25}.

A nivel celular con el uso de virus (adenovirus y retrovirus) se ha logrado restablecer la función de *p53* en células de neoplasias pulmonares y en

carcinomas de células escamosas que poseen mutaciones en *p53*, esta metodología ha sido ya propuesta en la práctica tanto en modelos animales como en humanos^{23, 25}.

Hasta la fecha la terapia consistente en el reestablecimiento de la funcionalidad del gen *p53* no ha sido ensayada en perras con tumor de glándula mamaria, sin embargo en un estudio reciente¹⁸ llevado a cabo en un total de 15 perros que presentaban diversos tumores, se encontró que en alrededor de un 50% el gen *p53* estaba mutado, estas mutaciones se detectaron mediante el uso de RT-PCR, siendo el dominio de transactivación, de unión a ADN y de oligomerización los más afectados por las mutaciones. Finalmente algunos autores han propuesto que el gen *p53* puede ser usado como blanco terapéutico en perros¹⁸.

IX. DISCUSIÓN Y PERSPECTIVAS

Dentro de los tratamientos tradicionales empleados en los pacientes en general diagnosticados con cáncer de glándula mamaria destacan los siguientes:

QUIRÚRGICOS: Uno de los métodos quirúrgicos más utilizados es la nodulectomía, que puede no resultar muy útil para perras con varias glándulas mamarias afectadas, además de no proporcionar tejido linfático para su estudio histopatológico, así como la persistencia del riesgo a sufrir nuevas lesiones primarias en el tejido mamario restante; adicionalmente, esta la mastectomía simple, que nos puede proporcionar el examen histológico de la invasividad tumoral, pero que no ofrece un acceso quirúrgico fácil a los ganglios linfáticos adyacentes; también encontramos la Resección en bloque, basada en los patrones de drenaje linfático y los lugares metastásicos regionales; y por ultimo la mastectomía radical, en cualquiera de sus modalidades, ya sea unilateral o bilateral, que tienen, indistintamente, la máxima morbilidad de todas las técnicas, tanto en el cierre de la herida, como en la eliminación del espacio muerto, pudiendo llegar a causar problemas importantes en la recuperación postoperatoria, además de la aparición excesiva de tensión en el sitio de incisión^{29, 30}.

RADIOTERAPIA Y QUIMIOTERAPIA: indicadas en los casos cuya biopsia señala invasividad o infiltración hacia vasos linfáticos y/o sanguíneos o con enfermedad metastásica a distancia; también existe la quimioterapia citotóxica ^{29, 30}.

ABLACIÓN HORMONAL: Considera el uso de fármacos antiestrogénicos como el tamoxifeno y el clomifeno, que reducen el estímulo del crecimiento en los tumores hormonalmente dependientes. El tratamiento hormonal puede presentar efectos secundarios adversos que pueden desembocar en la incontinencia urinaria y efectos agonistas de estrógenos, por ejemplo, signos de celo, flujo vaginal, e incluso, desarrollo de piómetra^{29, 30, 68}.

MODIFICADORES DE LA RESPUESTA BIOLÓGICA: Están diseñados para acrecentar la eliminación inmunomediada de las células tumorales residuales posteriores a la intervención quirúrgica, adicionalmente, este método se ha aplicado únicamente en perros, para iniciar las respuestas antitumorales, utilizando la eliminación de complejos antígeno anticuerpo tumorales circulantes^{29, 30, 31, 69, 68}.

El aspecto nutricional del cáncer de glándula mamaria ha tomado interés en los últimos años, a tal grado que se ha observado que una manipulación en la dieta puede ser de utilidad para prevenir el cáncer de glándula mamaria, incrementando el consumo de fitoestrógenos a través

del consumo de productos de soya, vitamina C y carotenoides y, disminuyendo el consumo de grasa (obesidad), y prefiriendo las carnes blancas en virtud de que se ha discutido el efecto mediador de la dieta en la exposición a hormonas ováricas esteroides⁶⁷.

Para entender el papel de las hormonas en la patogénesis de esta enfermedad, es necesario tomar en cuenta la etapa en que se encuentra el tumor, en virtud de que se ha observado que los tumores malignos pueden aparecer durante tratamientos con combinaciones de estrógenos y progesterona pero, regularmente, solo en casos en que se excede la concentración normal^{44, 46, 29, 68}.

La progesterona incrementa el crecimiento lobuloalveolar en la glándula mamaria con hiperplasia de elementos secretores y mioepiteliales; los estrógenos, por su parte, estimulan el crecimiento ductal; y los esteroides ováricos pueden, en cambio, alterar directamente la estructura genómica³⁰. Las hormonas ováricas estimulan el crecimiento de células en el último estado de transformación; con respecto a la hormona del crecimiento, se ha observado que animales que tienen una elevada concentración de esta hormona, son más susceptibles a desarrollar el tumor de referencia, con un tratamiento a base de progesterona^{29, 30, 46}.

Adicionalmente, existen animales con tumor de glándula mamaria, que han presentado una actividad secretora aumentada de somatotropina³⁰.

Estudios experimentales han sugerido que la prolactina en combinación con los estrógenos y la progesterona, son requeridos para el crecimiento del sistema tubuloalveolar de la glándula mamaria, en éste sentido, se requiere particularmente de la prolactina para la diferenciación de las células envolventes y para la lactación, además de estimular los receptores a estrógenos y, posiblemente, la actividad progestágena en ratón y, posiblemente en perros, podría estar incrementando la sensibilidad celular a las señales mitogénicas del estrógeno y la progesterona^{30, 46}.

En consecuencia con lo anteriormente expuesto, el presente trabajo nos lleva a ratificar la importancia que tienen las hormonas, en particular las ováricas, en la etiología del cáncer de glándula mamaria y, consecuentemente, su importancia en la forma de diagnosticar de manera precisa esta enfermedad, determinando si el tipo de tumor al que nos enfrentamos es o no dependiente a hormonas, midiendo los receptores hormonales que puedan estar presentes en las células que lo constituyen, ya que la obtención de estos datos, contribuye enormemente en la elección de un tratamiento mas adecuado e individualizado que nos lleve a un mejor pronóstico para el paciente^{29, 30, 31, 68}.

No obstante lo anterior, el gen *p53* se convirtió en objeto de arduo estudio al observarse en humanos que un gran porcentaje de cánceres presentaban mutaciones en este gen, en este sentido, este trabajo pretende contribuir en la recopilación de información que han arrojado numerosos estudios que al día de hoy, se han llevado a cabo para descifrar los mecanismos en los cuales está implicada la función de *p53*, las señales que la activan, la elaboración de futuras estrategias terapéuticas, su papel como modulador de la apoptosis y, finalmente, la prevención del cáncer^{61, 70}.

Se presenta información sobre la estructura de *p53*, su función y la forma en la que actúa al presentarse una agresión que genere estrés celular y se analizaron las alteraciones de sus funciones al generarse una mutación, confiriéndole a este gen un papel relevante en la formación y desarrollo de tumores^{61, 70}.

Normalmente, en células no expuestas a agresiones *p53* se encuentra en un estado no funcional en concentraciones basales pero al ocurrir un daño celular al ADN, *p53* es activado incrementándose sus niveles de concentración y prolongándose la vida media de la proteína, se detiene el ciclo celular y se trata de reparar el daño y si esto no es posible *p53* provoca que la célula entre en apoptosis disminuyendo la probabilidad de que se generen células hijas con mutaciones en su ADN; es así como el gen

p53 actúa como “guardián del genoma”. Asimismo se ha observado cómo la pérdida de *p53* conduce a un incremento en la inestabilidad genómica debido a un descenso en la tasa de reparación del ADN^{61, 65, 70}.

Cuando *p53* se encuentra activado es posible detectarlo fácilmente utilizando técnicas basadas en anticuerpos anti-*p53*, esto tiene una posible aplicación en el diagnóstico del cáncer ya que podríamos saber desde un principio si el tumor presenta mutaciones en este gen y poder así elegir el tratamiento adecuado^{69, 70}.

La mayoría de las mutaciones presentes en *p53* se localizan entre los exones 4-9 que corresponden a la región de unión al ADN y pueden originar en ésta proteína tanto pérdida de la función supresora de tumores como ganancia de función oncogénica, y modificar el repertorio de genes que son controlados por *p53* como factor de transcripción. Esta dualidad podría ser una explicación de la alta frecuencia de mutaciones de *p53* en el cáncer^{61, 70}.

La proteína *p53* es un factor de transcripción que controla a otros genes responsables en gran medida de regular y promover, las funciones asociadas a *p53* que en resumen son inhibición del ciclo celular, reparación del daño en el DNA, inhibición de la angiogénesis (neoformación de vasos sanguíneos) y la inducción de la apoptosis^{61, 70}.

Podemos concluir diciendo que el estudio de la función de esta molécula, sigue y seguirá siendo objeto de atención para investigadores ya que es uno de los ejes de investigación principales en oncología y en el caso de la perra es importante adoptar estas líneas vanguardistas de investigación ya que es un animal doméstico muy estimado y valorado en el que el tumor de glándula mamaria es la segunda causa de muerte por cáncer después del de piel; además de que podría ser un buen modelo animal experimental con posibles aplicaciones a futuro para contribuir en el estudio del cáncer de mama que es uno de los principales problemas de salud y una de las principales causas de muerte en la mujer a nivel mundial⁷⁰.

X. APÉNDICE

- Apaf-1: (Apoptosis Protease Activating Factor-1), proteína adaptadora que brinda copias de procaspasas específicas⁷¹.
- Bad: inactiva la inhibición de muerte celular, por lo que es un promotor de apoptosis⁷¹.
- Bax: estimula en la mitocondria al citocromo c⁷¹.
- Bcl-2: familia de proteínas intracelulares que ayudan a regular la activación de las procaspasas⁷¹.
- Bcl-w: miembro de la familia bcl-2 que promueve la sobre vivencia celular⁷¹.
- Bcl-xl: bloquea la activación del citocromo c, inhibiendo el proceso de apoptosis⁷¹.
- Bid: proteína promotora de apoptosis⁷¹.
- Caspasa: familia de proteasas envueltas en los eventos celulares que dan inicio a la apoptosis⁷¹.
- CED4: homologo de Apaf-1 y activador de muerte celular⁷¹.
- Ciclinas o cdk's: (Ciclinas Dependientes de Kinasas), regulan diferentes pasos de la división celular por fosforilación⁷¹.
- Citocromo c: electrón de las celulas respiratorias que juega un papel crítico en la apoptosis⁷¹.
- DED: (Death Effector Domain) ⁷¹
- DR5: (Death effector domain)⁷¹.

- FADD: (Fas Associated Death Domain) adaptador molecular apoptótico⁷¹.
- Fas: receptor de membrana que da inicio a la apoptosis⁷¹.
- ICAD: enzima unhibifora de la caspasa-activada⁷¹.
- Ki-67: marcador antigénico de proliferación celular; anticuerpo que reconoce un antígeno nuclear expresado solo en las fases G1, S, G2 y M del ciclo de proliferación celular, por lo que marca o tiñe únicamente la fracción de células en crecimiento indicándonos el grado de actividad proliferativa; un mayor porcentaje de proliferación (mayor porcentaje de núcleos teñidos en la prueba) significaría un mal pronóstico.
71.
- TNF: (Tumor Necrosis Factor)⁷¹.

XI. LITERATURA CITADA

1. Owen LN. A comparative study of canine and human breast cancer. *Invest. Cell. Pathol.* 1979; 2: 257-75.
2. Destexhe E, Lespagnard L, Degeyter M, Heymann R, Coignoul F. Immunohistochemical identification of myoepithelial, epithelial, and connective tissue cells in canine mammary tumors. *Vet. Pathol.* 1993; 30: 146-154.
3. Schafer KA, Kelly G, Schrader R, Griffith WC, Muggenburg BA, Tierney LA, Lechner JF, Janovitz EB, Hahn FF. A canine model of familiar mammary gland neoplasia. *Vet. Pathol.* 1998; 35: 168-177.
4. Hellmén E, Lindgren A. The expresión of intermediate filaments in canine mammary glands and their tumors. *Vet. Pathol.* 1989; 26: 420-428.
5. Aburto FEM. Histogenesis de los tumores mixtos de la glándula mamaria canina. (Tesis maestría en ciencias veterinarias). México, D.F. México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNAM, 1995.
6. Owen LN. Identifying and treating cancer in geriatric dogs. *Vet. Med.* 1991; January: 55-64.
7. Tabacchi L, Sandoval N, Perales R, et all. Neoplasia de glándula mamaria en caninos. *Visión Veterinaria*
www.visionveterinaria.com/articulos/03.htm.

8. Lavielle RE, Buen AN, Candanosa E, Pérez MM, Martínez MJ. Conteo de mastocitos en glándula mamaria canina con diferentes tipos de neoplasias. *Acta Médica* 1994; XXX: 21-25.
9. Villaseñor GH, Lavielle RE, Anzaldúa ASR, Pérez MM. Distribución de mastocitos del estroma de la glándula mamaria de perra (*Canis familiaris*), en periodos activo e inactivo. *Vet. Mex.* 1999; 30: 317-321.
10. Anzaldúa ASR, Tolosa SJ. *Manual de prácticas de Histología Veterinaria*. 3 ed. UNAM, 2000.
11. Graham JC, MS; O'keefe DA, Gelberg HB. Immunohistochemical assay for detecting estrogen receptors in canine mammary tumors. *Am. J. Vet. Res.* 1999; 60: 627-630
12. Donnay I, Rauis J, Wouters-Ballman P, et all. Receptors for oesrogen, progesterone and epidermal growth factor in normal and tumorous canine mammary tissues. *J. Reprod. Fert. Suppl.* 1993; 47: 501-512.
13. Nieto A, Peña L, Pérez-Alenza D, ett. All. Immunohistologic detection of estrogen receptor alpha in canine mammary tumors: clinical and pathologic associations and prognostic significance. *J. Vet. Pathol.* 2000; 37: 239-247.
14. Van Garderen E, Hein JA, Der Poel V, Swennenhuis JF, Wissink EHJ, Rutteman GR, Hellmén E, Mol JA, Schalken JA. Expression and molecular characterization of the growth hormone

- receptor in canine mammary tissue and mammary tumors. *Endocrinology* 1999; 140: 5907-5914.
15. Arrowsmith CH. Structure and function in the p53 family. *Cell Death and Differentiation* 1999; 6: 1169-1173.
 16. Bedi A, Mookerjee B. Biological significance and molecular mechanism of p53 induced apoptosis. *Apoptosis* 1998; 3: 237-244.
 17. Burns FT, El-Deiry WS. The p53 Pathway and Apoptosis. *J. Cell. Phys.* 1999; 181: 231-239.
 18. Setoguchi A, Sakai T, Okuda M, Kenichi M, et all. Aberrations of the p53 tumor suppressor gene in various tumors in dogs. *Am. J. Vet. Res.* 2001; 62: 433-439.
 19. Muto T, Wakui S, Takahashi H, Maekawa S, Masaoka T, Ushigome S, Furusato M. p53 gene mutations occurring in spontaneous benign and malignant mammary tumors of the dog. *Vet. Pathol.* 2000; 37: 248-253.
 20. Bertrand P, Rouillard D, Boulet A, et all. Increase of spontaneous intrachromosomal homologous recombination in mammalian cells expressing a mutant p53 protein. *Oncogene* 1997; 14: 1117-1122.
 21. Toroella KM, Villa TS. Bases genéticas del cáncer. México. Instituto Nacional de Cancerología. Fondo de Cultura Económica, 1998.

22. Minton SE. New hormonal therapies for breast cancer.
www.moffitt.usf.edu/pubs/ccj/v6n3/article3.htm.
23. Kaufmann HS. Apoptosis: pharmacological implications and therapeutic opportunities. San Diego (Ca): Academic Press, 1997.
24. Joseph J, Minter LM, Becker KA, Blackburn AC. Hormonal control of p53 and chemoprevention. *Breast Cancer Research* 2002; 4: 91-94.
25. Reed JC. Apoptosis targeted therapies for cancer. *Cancer Cell*. January 2003; 3: 17.
26. Young B, Heath JW. *Functional Histology: a text and colour atlas*. 4 ed. Toronto: Churchill Livingstone, 2000.
27. Bergman RA, Afifi AK, Heidger PM. *Histología*. 1 ed. México: Mc Graw Hill Interamericana, 1998.
28. www.afip.org/vetpath/who/whomam.htm
29. Morgan RV. *Clínica de pequeños animales*. 3 ed. Madrid, España: Harcourt Brace, 1999.
30. Morrison W. *Cancer in dogs and cats*.
31. Torres TR. *Tumores de mama: Diagnostico y Tratamiento*. México: Interamericana Mc Graw Hill, 1994.
32. Clarke RB, Howell A, Potten CS, Anderson E. Dissociation between steroid receptor expression and cell proliferation in the human breast. *Cancer Research* 1997; 57: 4987-4991.

33. Gerald M, Gärtner F, Schmitt F. Immunohistochemical study of hormonal receptors and cell proliferation in normal canine mammary glands and spontaneous mammary tumours. *The Veterinary Record* 2000; 1: 403-406.
34. Saji S, Omoto Y, Shimizu C, et al. Expression of estrogen receptor (ER) β cx protein in ER α -positive breast cancer: specific correlation with progesterone receptor. *Cancer Res.* 2002; 62: 4849-4853.
35. Rodriguez C, Patel AV, Calle EE, Jacob EJ, Thun MJ. Estrogen replacement therapy and ovarian cancer mortality in a large prospective study of US women. *JAMA* 2001; 285: 1460-1465.
36. Jasieriska G. Lifestyle, hormones, and risk of breast cancer. *British Medical Journal.* 2001; 322: 586-587.
37. Ellis LM, Wittliff JL, Bryant MS, et al. Correlation of estrogen, progesterone and androgen receptors in breast cancer. *The Am. J. of Surgery.* 1989; 157: 577-81.
38. Wile AG, DiSaia PJ. Hormones and breast cancer. *The Am. J. of Surgery.* 1989; 157(6): 438-442.
39. Bry's M, Wójcik, Romanowicz-Makowska H, Krajewska WM. Androgen receptor status in female breast cancer: RT-PCR and Western blot studies. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 2002; 128: 85-90.
40. Guyton, Hall. *Tratado de fisiología médica.* 10 ed. México: Mc Graw Hill Interamericana, 2001.

41. Laguna J, Piña E. Bioquímica de Laguna. 5 ed. México: Manual Moderno, 2002.
42. Alberts B, Jonson A, Lewis J, Raff Martín, Roberts K, Walter P. Molecular biology of the cell. 4 ed. EUA: Garland Science, 2002.
43. Randall D, Burggren W, French K. Animal Physiology: mechanism and adaptation. 5 ed. New York: WH Freeman and Company, 2002.
44. Key TJ, Verkasalo PK. Endogeneous hormones and the etiology of breast cancer. Breast Cancer Research 1999; 1(1): 18-21.
45. Mol JA, Latinga-van Leeuwen, Van Garderen E, et all. Mammary growth hormone and tumorigenesis lessons from the dog. Vet. Quart. 1999; 21: 111-115.
46. Rutteman GR, Misdorp W. Hormonal background of canine and feline mammary tumours. J. Reprod. Fert. Suppl. 1993; 47: 483-487.
47. www.virology.med.unoc.gr/OR/2001/volume8/number6/1215-1219.pdf
48. www.nature.com/cgitaf/DynaPage.taf?file=/onc/journal/v16/n2/abs/1201489a.html
49. www.afip.org/acvp/vet_pathol/TOC37-1.htm
50. www.k.9magazinefree.com/cgi-bin/preview.pl?p=iss7p18

51. Devilee P, Van Leeuwen IS, Voesten A, et al. The canine p53 gene is subject to somatic mutations in thyroid carcinoma. *Anticancer Research*, 1994 ; 14 : 2039-2046.
52. Van Leeuwen IS, Cornelisse CJ, Misdorp W, et al. p53 gene mutations in osteosarcomas in the dog. *Cancer Lett.* 1997 ; 111 : 173-178.
53. Teifke JP, Lohr CV, Shirasawa H. *Vet. Microbiology* ; 1998 ; 60 : 119-130.
54. Mayr B, Reifinger M. *Acta Veterinaria Hungarica* 2002 ; 50 : 31-35.
55. Mayr B, Winkler G, Shaffner, Reifinger M. *Acta Veterinaria Hungarica* 2002 ; 50 : 157-160.
56. www.ashi.org/articles/cancer_cancer_menace.htm
57. Loukopoulos P, Thornton JR, Robinson WF. Clinical and pathologic relevance of p53 index in canine osseous tumors
58. Sironi G, Riccaboni P, Mertel L, et al. P53 protein expression in conjunctival squamous cell carcinomas of domestic animals. *Vet Ophthalmol* 1999 ; 2 : 227-231.
59. Wakui S, Muto T, Yokoa K. Et al. Prognostic status of p53 gene mutations in canine mammary carcinoma. *Anticancer Res.* 2001 ; 21 : 611-616.

60. Inoue M, Wada N. Immunohistochemical detection of p53 and p21 proteins in canine testicular tumours. *Vet. Res.* 2000 ;146 : 370-372.
61. Chu LL, Rutterman GR, Kong JMC, et all. Genomic organization of the canine p53 gene and its mutational status in canine mammary neoplasia. *Breast Cancer Research and Treatment* 1998; 50: 11-25.
62. A review of the importance of the p53 gene in cancer research. Available from: www.members.aye.net/~jfbaker/p53.html.
63. Coultas L, Strasser A. The molecular control of DNA damage induced cell death. *Apoptosis* 2000; 5: 491-507
64. Fisher DE. The p53 tumor suppressor: Critical regulator of life and death in cancer. *Apoptosis* 2001; 6: 7-15.
65. Geyer RK, Nagasawa H, Little JB, Maki CG. Role and regulation of p53 during an ultraviolet radiation induced G1 cell cycle arrest. *Cell Growth and Differentiation.* 2000; 11: 149-156.
66. Flores-Pérez FI. ¿Es la muerte importante para la vida?. *Vet. Méx* 2002; 33: 161-172.
67. Lazcano-Ponce EC, Tovar-Guzmán V, Alonso-de Ruiz P, et all. Cancer de mama. Un hilo conductor histórico, presente y futuro. *Salud Pública Mex.* 1996; 38: 139-152.
68. Williams RH. *Tratado de endocrinología.* 6 ed. Madrid: Interamericana, 1985.

69. Miltra R, Singh S, Khar A. Antitumor immune responses. *Expert reviews in molecular medicine*. 2003 jan; 28 (5): 19 acreens. Available from: www.expertreviews.org.
70. Silva A, Gutierrez A, Ar Lazaro C. Estructura, regulación y funciones del supresor de tumores p53. *Memorias del V Congreso Virtual Hispanoamericano de Anatomía Patológica*; 2002 4 nov-15 dic; congamat.uninet.edu and club de informatica aplicada de la SEAP.
71. Alberts. *Molecular Celular Biology of The Cell*.. 4 ed. USA: Garland Science, 2002.