

Modelos de investigación oncológica. Antitumorales en pacientes caninas con tumores de glándula mamaria malignos

RESUMEN

En la investigación oncológica es controversial en el uso de modelos animales pues requiere asegurar su bienestar. El objetivo de este trabajo es proponer dos modelos caninos aptos para evaluar terapias con medicamentos a reposicionar y para comparar procedimientos quirúrgicos en oncología clínica. Un modelo se basa en biopsias reproductivas (MCBR) de hembras sin enfermedad aparente y el otro en biopsias diferidas de tumores espontáneos (MCTE) En el MCBR se analizaron cambios morfológicos, variaciones en la inmunexpresión de receptores hormonales y niveles de proliferación celular, en biopsias reproductivas (n= 32) de tejidos mamario. En el MCTE se analizaron biopsias diferidas de tumores de glándula mamaria malignos (n=128). En ambos modelos se hallaron cambios en los niveles sanguíneos de hormonas y se correlacionaron los resultados con las fases del ciclo estral. Se estandarizaron las poblaciones de pacientes caninas según tipología , grado de malignidad y se implementaron seguimientos clínicos para evaluar la sobrevida general y libre de enfermedad. Se reposicionaron dos medicamentos, la desmopresina como antitumoral periquirúrgico, el aglepristone como adyuvante hormonal posquirúrgico, y se compararon técnicas de mastectomías. En el MCBR con el aglepristone se demostró el rol mitógeno de la progesterona. En el MCTE la desmopresina y el aglepristone demostraron su capacidad para aumentar significativamente la sobrevida de las pacientes caninas, en las hembras caninas ovariectomizadas el aglepristone no tuvo efectos significativos en ambas variables. Ambos modelos son aptos para evaluar el reposicionamiento de medicamentos destinados a terapia antitumoral en hembras caninas.

Palabras claves: Modelo animal, neoplasia mamaria, terapia antitumoral.

INTRODUCCIÓN

Los modelos animales son un componente importante en la investigación oncológica donde el bienestar animal representa un papel clave. Su uso es controversial y el debate más significativo se centra en el campo de la investigación clínica aplicada al implementar modelos animales *in vivo*. **Russell y Burch, (1959)** enunció los principios que se conocen como las “Tres Erres” (3Rs) con el objetivo de eliminar la inhumanidad y se sintetizan en la aplicación del reemplazo, la reducción y el refinamiento (Workman, 2010).

La mayoría de las investigaciones se basan en el modelo murino, se implementan para medir eficacia y seguridad de fármacos y vacunas, a la vez que proporcionan avances en el conocimiento de los procesos fisiopatológicos de enfermedades, validándolos con la especie de interés. Existe una gran variedad de estos modelos por el amplio conocimiento de su biología, las homologías que presenta con el genoma, el fácil manejo, bajo costo de mantenimiento por su tamaño pequeño y vida relativamente corta que aceleran los procesos. En este sentido se destacan los trabajos de Lanari et.al, (2009), al desarrollar líneas murinas consanguíneas inducidas por carcinógenos, consideradas como líneas de tumores espontáneos.

El modelo canino ha sido propuesto por varios autores para la terapia traslacional del cáncer, un sistema inmunocompetente que puede acortar la brecha entre los modelos preclínicos y los ensayos clínicos en humanos constituyéndose como una alternativa

intermedia para reposicionar fármacos antitumorales (Valdivia, y col., 2021). Posee similitudes en los aspectos clínicos, epidemiológicos e histológicos, presentan homologías celulares, moleculares, más del 80% de similitud genéticas (Melin y col., 2016), algunas especies tienen peso, tamaño similar y comparten el ambiente con los humanos (Gray y col., 2020). Presentan una alta incidencia de la enfermedad, según reportes, el 46,5% presentan tumores benignos y el 53,5% tumores malignos y al presentar 4 o 6 pares de glándulas mamarias, desarrollan más de una masa tumoral con diversidad de tipologías malignas (Burrai, y col., 2020).

Los tumores en la glándula mamaria malignos (TGMM) son patologías hormono-dependientes. Desde décadas y confirmado con estudios recientes se sabe que los estrógenos y la progesterona actúan a través de sus receptores en el tejido mamario como mitógenos. Las isoformas del receptor de progesterona A y B (RPA y RPB) contribuyen a eventos genómicos y no genómicos que serían la causa de la resistencia en algunas terapias con antiestrógenos en humanos (Lanari y col., 2009). La progesterona induce a la hormona de crecimiento provocando proliferación y diferenciación de la glándula mamaria encontrando una mayor inmunoexpresión de sus receptores (PR) en las zonas con proliferación. En este sentido cobran importancia los trabajos de Knustson y col. (2017) sobre el control de la cantidad y la función de las poblaciones de células madre y progenitoras en las glándulas mamarias normales con capacidad de autorrenovación, eventos que predisponen alteraciones genéticas, promueven procesos displásicos o eventualmente actúan derivando a procesos de iniciación y crecimiento tumoral.

La extensa fase lútea que caracteriza el ciclo estral de la perra permite una clara evaluación de los receptores de las hormonas esteroideas y su acción en la proliferación del tejido mamario. Estas características hacen que el modelo canino se presente como una opción para aportar a la comprensión de las acciones hormonales en el tejido mamario en hembras caninas clínicamente sanas y contribuyan a encontrar nuevas alternativas terapéuticas para pacientes con TGMM. El objetivo de este trabajo es proponer dos modelos experimentales caninos para la investigación oncológica de TGMM, implementados desde hace varias décadas.

Los modelos descritos fueron utilizados, para el estudio de medicamentos como la desmopresina (DDAVP) y el aglepristone (AGLE) se han publicado numerosos ensayos, (Hermo y col., 2008, Torres 2009; Vaquero y col., 2017; 2019).

En el modelo MCBR se utilizaron hembras caninas sin signos clínicos aparentes de enfermedad neoplásica a las cuales se le realizaron cirugías programadas donde se obtuvieron biopsias mamarias de mínima invasión bajo anestesia general, a partir del análisis de estas muestras se pudieron describir cambios morfológicos y cuantificar la inmunoexpresión de receptores hormonales como progesterona (RP), estrógenos (RE) y andrógenos (RA) y del marcador de proliferación, la proteína Ki-67 contrastando dos grupos uno control y otro grupo tratado.

Cuando se realizaron los estudios experimentales comparando dos técnicas quirúrgicas estandarizadas los datos fueron obtenidos a través del seguimiento clínico de dos grupos en estudio intervenidos con distintos procedimientos.

El método estadístico de Kaplan-Meier es especialmente útil en estudios con número pequeño de pacientes porque asume que el evento terminal es independiente para cada paciente y las probabilidades de sobrevivir en un tiempo determinado se calculan por una ley multiplicativa de probabilidades. La característica distintiva que lo hace potente en estos estudios reside en el hecho que la proporción acumulada que sobrevive se calcula para el tiempo de supervivencia individual de cada paciente y no se agrupan los tiempos de supervivencia en intervalos (Ghali y Quan 2001), en estos estudios experimentales se utilizó el paquete IBM-SPSS statistics.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los diseños experimentales *in vivo*, incluyeron hembras caninas clínicamente sanas, sin tener en cuenta la raza, a las cuales se les extrajo biopsias en cirugías programadas para MCBR y con resección de mamas en las pacientes portadoras de tumores de glándulas mamarias malignos para MCTE. Cada grupo experimental de animales divididos en 2 grupos uno control (PLA) y el otro tratado con Desmopresina (DDAVP) o con Aglepristone (AGLE) dependiendo el medicamento a evaluar.

Con este modelo también se contrastaron dos técnicas quirúrgicas de resección tumoral en un tercer ensayo. En el MCTE se implementaron seguimientos clínicos de supervivencia y sobrevida general libre de enfermedad. Para el caso de la terapia hormonal antitumorales de las drogas se estudiaron previamente en el MCBR. Estos modelos permiten estudios descriptivos, analíticos siendo en el área de la investigación aplicada.

MCBR. Diseños experimentales. Distribución de las poblaciones estudiadas

Se estudiaron 38 hembras caninas sin signos clínicos compatibles con enfermedad neoplásica en dos estudios experimentales básicos. Se obtuvieron biopsias de mínima invasión de mamas inguinales en las cuales se evaluó la acción antiproliferativa del AGLE, en relación con el aumento o disminución del receptor de progesterona (RP) y el marcador de proliferación (Ki67).

Se tomaron muestras sanguíneas por punción venosa periférica para evaluar parámetros prequirúrgicos y determinar niveles séricos de progesterona que confirman la fase del ciclo estral, la fase luteal (en niveles mayores a 2 ng/ml, para AGLE (n=20) y anestro (valor menor a 2 ng/ml).

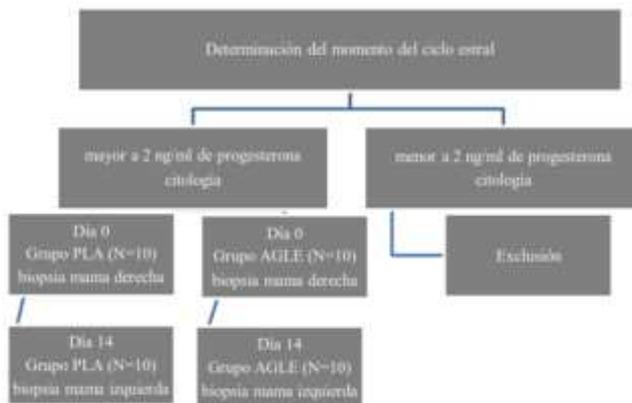


Figura 1. Esquema de distribución de grupos de estudio (Vaquero, P. 2023)

Estudios experimentales en los grupos MCBR.

Las muestras obtenidas a través de este modelo experimental para evaluar cambios morfológicos y cuantificar la expresión IHQs de receptores hormonales, mediante

porcentajes de positividad de los receptores (RP) según el medicamento a reposicionar, los resultados que se asociaron a las variaciones del Ki67 también evaluados a través de la técnica de IHQs. Se compararon las diferencias de las medias por un test de Student para muestras relacionadas de los RP y Ki-67, en cada uno de los días del protocolo (Figura 1). El nivel de significancia se estableció en $p < 0.05$, los datos muestrales se sometieron al test de Shapiro-Wilk para evaluar su distribución normal y a la prueba de Levene para verificar la calidad de varianza. Luego de comprobar el cumplimiento de los supuestos se realizó la prueba T para dos medias relacionadas.

Para el reposicionamiento del AGLÉ como antitumoral, en el primer ensayo (Torres 2009), se obtuvieron muestras de biopsias mamarias que recibieron tratamiento y se compararon con muestras controles a las que no se realizaba ningún tratamiento (día -1 vs 7 y 14 días; AGLÉ n=6) y con placebos (PLA n=2; Tabla 2). Este protocolo permitió constatar que las variaciones producidas por las ablaciones ováricas no se observaron diferencias estadísticamente significativas en los animales que recibieron placebo. Un ensayo similar al anterior, pero sin realizar la ovariectomía (Vaquero 2023) se implementó para validar el protocolo mediante el aumento del número de animales (n=20). Se mantuvo el protocolo terapéutico (AGLÉ n=10, con grupo PLA; n=10) y se varió el cronograma de las biopsias incisionales (-1 vs 14 días; figura 2). En ambos ensayos y previo a la toma de las muestras se evaluó el momento del ciclo estral, mediante frotis vaginal con las técnicas de rutina (Cordova Balarezo, 2019) y se determinó progesterona sanguínea por punción venosa periférica, con la técnica de inmunoensayo enzimático quimioluminiscente (Vaquero, 2023).

Con formato: Fuente: Sin Negrita

Tabla 1. MCBR. Biopsias: OVD: Ovario derecho; BUD: Biopsia de útero derecho, OVI: Ovario izquierdo; BUI: Biopsia de útero izquierdo; BMD Biopsia de mama inguinal derecha TRA: Droga a evaluar. PLA: placebo.

	Día -1	Día 0	N (7 o 14) Días
Perras 1-6	OVD-BUD-BMD ₁₋₆	TRA ₁₋₆	OVI-BUI-BMD ₁₋₆
Perra 1-4	OVD-BUD-BMD ₁₋₄	PLA ₁₋₄	OVI-BUI-BMD ₁₋₄

Figura 2. MCBR. Organigrama de toma de biopsias incisionales del segundo ensayo con AGLÉ.

MCBR. Procesamiento de las biopsias reproductivas

En los cortes de mama que se destinaron a evaluaciones con técnicas IHQs, de RP y Ki-67 se cuentan 6 a 8 campos representativos a 1000x y 400x respectivamente. Se calcula el porcentaje de células epiteliales y tejido conectivo de las muestras contando los núcleos positivos (marrones en diferentes grados) y negativos de aproximadamente 100 células, para RP (Figura 2; A y B) y para Ki-67 (Figura 2; C y D).

En las biopsias mamarias se analizaron lóbulos, alvéolos, conductos interlobulillares y estroma interlobular, se caracterizaron los cambios mediante signos de proliferación del

epitelio ductal intralobular, capas del epitelio de revestimiento de los conductos, de los núcleos de fibroblastos en el estroma con actividad mitótica y presencia o ausencia de secreción. En todos los tejidos se evaluaron las diferencias de densidad vascular (número de elementos vasculares por unidad de superficial).

MCTE. Diseños experimentales. Distribución de las poblaciones estudiadas

Se estudió una población de 128 hembras caninas de edad avanzada, enteras y castradas portadoras de TGMM según la droga a reposicionar como antitumoral. En los grupos controles se administraron placebos con iguales volúmenes y períodos de administración. Con el propósito de obtener la mayor paridad entre los grupos tratados y placebos, se estratificaron los estadios clínicos (I, II o III) de acuerdo con el sistema TNM (Owen, 1980), se clasificaron histológicamente los TGMM biopsiados según Misdorp y col., (1999), la malignidad tumoral fue graduada histológicamente por el método Nottingham modificado para su uso en caninos, (Goldschmidt y col., 2011).

Para verificar la igualdad en la distribución de los datos en los tratamientos entre los grupos los estadios clínicos y los grados histológicos fueron evaluados con el test de Kruskal-Wallis para variables continuas y por el test de Fisher para variables categóricas. El nivel de significancia se fijó en todos los casos en $p < 0,05$ en todos los ensayos. Las dosis y periodos se evalúan mediante ensayos previos murinos o con el MCBR.

Al confirmar la acción antiproliferativa del AGLE, sus dosis y tiempos de aplicación con el MCBR, se evaluó en pacientes caninas portadoras de TGMM enteras ($n=20$) y castradas ($n=20$) mediante seguimientos clínicos durante 900 días, la sobrevida libre de enfermedad (SLE) y la sobrevida general (SG), definidas como el tiempo transcurrido desde la primera cirugía a la recidiva (local, regional o distante) o hasta la muerte del animal asociada a las neoplasias, respectivamente, con consentimiento informado. También se compararon dos tratamientos quirúrgicos mastectomía simple y mastectomía en bloque (MS vs MB; $n=22$). Ambas curvas de supervivencia se estimaron utilizando el método de Kaplan-Meier que elabora curvas de supervivencia mediante el test log-rank del paquete estadístico de SPSS- IBM que utiliza la probabilidad de riesgo hasta alcanzar el evento o punto final.

RESULTADOS

MCBR. Reposición de AGLE .

El modelo se mostró eficiente para reposicionar drogas. En el ensayo con tratamientos de AGLE, permitió establecer dosis y un período óptimo de 14 días para su administración. Se demostró que la progesterona sérica desciende al día 7 y notablemente al día 14 frente a un descenso mínimo en el grupo PLA. La expresión de RP disminuyó significativamente al día 7 (Figura 3; A) y en el día 14 en tanto en el grupo PLA, aumentó el día 7 y se mantuvo igual en el día 14 (Figura 3; B). Por su parte la expresión de Ki-67, presentó un comportamiento similar (Figura 3; D). Los datos están publicados en tesis doctoral (Torres, 2009) y por Vaquero, (2023).

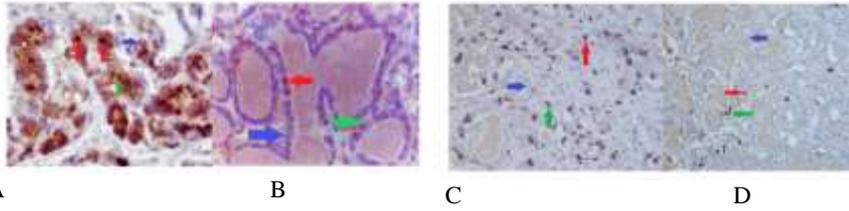


Figura 2. MCBR. Grupo AGLE. IHQ. Marcación nuclear en células epiteliales de RP (Fotos A y B). Flechas: Rojas: marcación positiva intensa. Verdes: positiva moderada. Azules negativos. A: muestra día 0. B: muestra día 14. Marcación nuclear en células epiteliales de Ki-67 (Fotos C y D). C: muestra día 0. D: muestra día 14. Fuente Vaquero 2023.

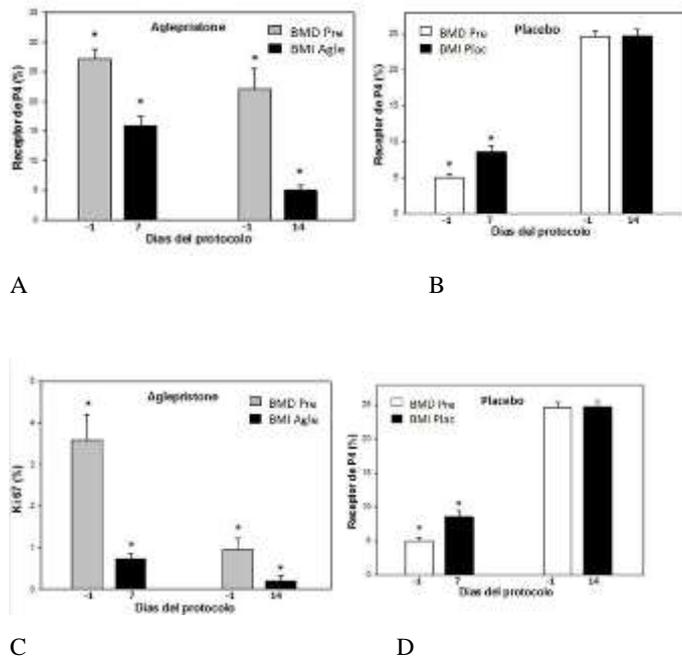
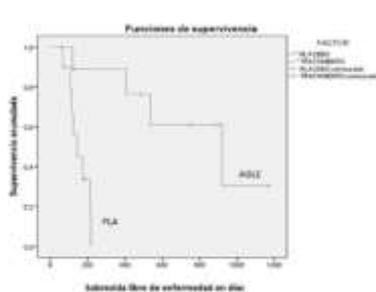


Figura 3. AGLE Porcentaje (media \pm SEM) de expresión de HIQ en tejido mamario en hembras caninas clínicamente sanas tratadas (AGLE) y grupo control. Ensayo I Períodos de aplicación a 7 y 14 días; de RP (gráficos A y B) y de Ki67 (gráficos C y D). Ensayo II: periodos de aplicación 14 días: RP (grafico E) y Ki67 (grafico F).

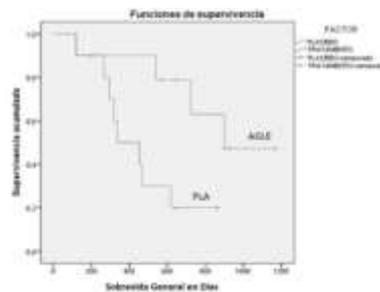
MCTE. Ensayos: DDAVP, tratamientos quirúrgicos y AGLE

Siguiendo los alcances definidos para esta publicación, se muestran algunos resultados a los efectos de graficar este modelo. En el ensayo I, establecidos los regímenes e intervalos de administración, el tratamiento con AGLE en pacientes con TGMM, demostró el aumento significativo de la SLE y la SG en hembras caninas enteras en estadios clínicos

I, II y III, aplicando un nivel de significancia de $p > 0,01$ para la SLE (Ver Figura 4 gráfico A) y de $p > 0,05$ para la SG (Ver Figura 4 Gráfico A). Esta evidencia señala que es útil como coadyuvante para el tratamiento de los tumores mamarios caninos en hembras enteras (Vaquero, 2023). En el ensayo II, en hembras ovariectomizadas, el AGLE con las mismas dosis y regímenes de administración, (n= 8) y con un grupo PLA (n=10), no fue posible encontrar diferencias significativas en la SG ni en la SLE, (Vaquero y col., 2017), este resultado emergente podría dar respuesta sobre la resistencia de algunas terapias antitumorales hormonales, asociados a la falta de integridad del eje hipotálamo hipofisario gonadal. En el ensayo III, el modelo se mostró apto para comparar dos técnicas de mastectomías para resección la tumoral en 20 pacientes enteras, tampoco se encontraron diferencias significativas en la SLE ni en la SG (figura 4; C y D), entre los tratamientos (Torres, P. (2009). En el ensayo IV se evaluó la reposición de DDAVP en 21 pacientes caninas enteras y tuvo un efecto positivo aumentando la SLE (Figura 4; E) y la SG (Figura 4; F) con diferencias significativas entre los grupos DDAVP y Placebo con un nivel de significancia de $p < 0.05$ (Hermo y col., 2008, Torres P. 2009).



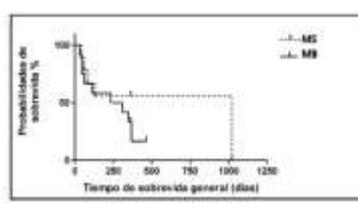
A



B



C



D



E



F

Fuentes: Gráficos A y B Vaquero, (2023). Gráficos C, D, E y F (Torres, 2009)

Figura 4. Kaplan-Meier probabilidades de supervivencia según ensayos. AGLS SLE (gráfico A) y SG (gráfico B) en veinte pacientes. Tratamientos quirúrgicos. SLE (gráfico C) y SG (gráfico D) en veintidós pacientes, Desmopresina: SLE (gráfico E) y SG (gráfico F) en veintiún pacientes.

DISCUSIÓN

Los resultados de los estudios experimentales en discusión en este trabajo muestran la plasticidad y eficiencia de los modelos MCBR y MCTE para evaluar adyuvantes antitumorales como agentes terapéuticos contra los TGMM.

Son una alternativa intermedia frente a las posturas extremas en el debate sobre los modelos animales *in vivo* (Valdivia, y col., 2021) ya que aplican los principios enunciados por Russell y Burch, (1959) conocidos como las tres “Rs”. Ambos modelos permiten ensayos con cirugías programadas que favorecen a la especie canina, intervenciones que se realizan con consentimiento informado de tutores y según su condición callejera a través de organizaciones e instituciones como lo sugiere la Organización Mundial de Sanidad Animal [OIE], (2022, cap. 7.7). En el MCBR son ovariectomías u ovarioprostectomías, conocido como esterilización canina que tienen efecto protector sobre la incidencia de TGMM (Sonnenschein y col., 1991) y contribuyen a la salud ambiental minimizando los riesgos concomitantes del aumento poblacional canino (OHHLEP, 2022), estas biopsias permiten conocer los comportamientos biológicos de las drogas a reposicionar y se aplican.

En el MCTE se aplica la cirugía reductiva como tratamiento primario en el control de TGMM en hembras caninas y a veces es el único que recibirá la paciente canina. Además, en la clínica veterinaria, los tutores suelen llegar con retrasos a la consulta y llegan a la consulta con patologías avanzadas, sin haber recibido tratamientos previos, este aspecto negativo incide favorablemente en las muestras que se obtienen en el MCTE por cuanto se las puede considerar libres de contaminación medicamentosa que pueda incidir en los datos, favoreciendo la investigación de la terapia traslacional del cáncer (Gray y col., 2020). Además, las biopsias diferidas aportan diagnósticos y pronósticos con datos de relevancia mediante los estudios histopatológicos e HIQs, sumado al cuidado posoperatorio que las pacientes obtienen a través de las evaluaciones clínicas trimestrales a las pacientes caninas. Se aplican estándares de humanidad, los abordajes quirúrgicos se realizan bajo los protocolos del manejo del dolor en condiciones de anestesia general (Audisio y col, 2011) y para la clínica veterinaria proporcionan datos de prevalencia e incidencia de la enfermedad.

Estos modelos se pueden implementar en secuencia o en forma independiente, según el motivo de estudio, se aplica el principio de reducción, porque requieren una mínima población y en el MCBR se obtiene información que se refuerza con dobles controles en un mismo animal, en el MCTE el estadístico estima las supervivencias como evento terminal e independiente para cada paciente, se calculan por una ley multiplicativa de probabilidades que otorga a la proporción acumulada que sobrevive, con mayor potencia sobre aquellos estimadores que agrupan los tiempos de supervivencia en intervalos.

Para beneficio de la terapia traslacional del cáncer, el MCTE posee la ventaja de acortar los seguimientos clínicos porque la especie canina envejece con una velocidad cuatro veces mayor que la humana, lo que reduce el tiempo de presentación de las recidivas, los seguimientos se realizan durante un año, mientras que los estudios en el cáncer de mama humano requerirían rangos entre 5 a 25 años (Mahvi, 2018).

Estos modelos permiten evaluar el reposicionamiento de drogas para adyuvantes antitumorales que se presentan como alternativa sobre la quimioterapia poco

implementada en la clínica veterinaria, debido al índice terapéutico muy estrecho que presentan las drogas (Valdivia y col., 2021) y sus efectos secundarios (Chavalle y col., 2022) al que se suma la falta de estructura en centros y clínicas veterinarias para acompañar estos procesos terapéuticos.

Con el MCTE se confirmó que la cirugía por sí sola no resuelve las recidivas al comparar la escisión local frente a la escisión radical. dos tipos de mastectomías, simple y en bloque como tratamientos quirúrgicos (Torres, 2009), en concordancia con Stratmann y cols. (2008).

Los recientes desarrollos en la terapia hormonal y las homologías entre ambas especies descritas otorgan un valor especial a los modelos con TGMM espontáneos definidas como como neoplasias hormono-dependientes y en particular por el papel mitógeno de la progesterona (Gray y col., 2020). Como demuestran los resultados, estos modelos en secuencia permitieron establecer los regímenes de dosificación, respecto a la cantidad, los intervalos entre las administraciones y la duración de los tratamientos (Torres, 2009; Vaquero 2019) y ello se debe al beneficio de la lentitud de las fases del ciclo estral de la hembra canina como lo demostró el MCBR al evaluar la acción del antiprogéstágeno, AGLE y para el caso del ET se evalúa su acción en el período de anestro, con 4 a 11 meses según las razas (Gobello y col., 2003).

Estos modelos confirman la propuesta que de varios autores para la terapia traslacional y ubican al modelo canino como un sistema inmunocompetente que permite acortar la brecha entre los modelos preclínicos y los ensayos clínicos en humanos (Valdivia, y col., 2021). Con el MCTE se evaluó el efecto antitumoral del DDAVP en pacientes caninas portadoras de TGMM mostrándose significativamente efectivo en hembras caninas con estadios clínicos III (Hermo y col., 2008; Torres, 2009), las dosis y los intervalos perioperatorios fueron propuestos, por Alonso y col., (1997) y Gomez y col., (2006) mediante modelos murinos. En cambio, la administración de DDAVP no resultó efectiva en estadios clínicos IV y V (Hermo, 2009); en concordancia con lo informado por (Soremno y col., 2020).

En medicina humana, se demostró su eficacia antitumoral preclínica en una amplia variedad de tipos de tumores y osteosarcomas (Sobol y col., 2021). Un laboratorio, propuso a la Desmopresina®, para la clínica veterinaria como “hemostático perioperatorio en cirugías de alto riesgo y como antitumoral perioperatorio en cirugías con riesgo de metástasis, reduciendo la recurrencia local, la diseminación linfática y la propagación metastásica a distancia”. Benavente, (2018) en un reporte sobre células de cáncer mamario de origen canino evaluó in vitro sus acciones antiproliferativas y sugiere que podrían estar relacionadas con el papel desarrollado por el subtipo V2 del receptor a la vasopresina. Los estudios continúan para la clínica humana con un análogo, [V4Q5] dDAVP y reportan una caída posoperatoria en los recuentos de células tumorales circulantes (Weinberg y col., 2015).

En este sentido los modelos se mostraron aptos para la reposición del AGLE, antagonista del receptor de progesterona, como adyuvante antitumoral antiproliferativo, de uso veterinario y clínicamente indicado para el tratamiento conservador de la piómetra (Gobello y col., 2003). En los bioensayos, se evidenció una disminución significativa en la expresión de los RP y frente al MKi-67. También evidenció una disminución significativa de los niveles sanguíneos de la progesterona a los quince días de tratamiento; este resultado se explicaría por una modulación sobre el eje hipotalámico-pituitario a través del bloqueo de RP, en consonancia con el acortamiento del intervalo interestral descrito por Galac y col., (2004).

Los ensayos descritos avalan la propuesta del MCTE, para establecer los regímenes e intervalos de administración y observar la capacidad antiproliferativa del AGLE. Los

protocolos del MCTE se mostraron aptos para evaluar su efecto en pacientes hembras con TGMM, para pacientes sin ovariectomías con estadios clínicos I, II y III, se mostró significativamente efectivo al aumentar la SLE y SG (Vaquero, 2023, en consonancia con Guil-Luna y col., (2017), sin embargo, con las mismas dosis y regímenes de administración, no se encontraron diferencias significativas en la SG ni en la SLE, en de hembras caninas ovariectomizadas (Vaquero y col., 2017), lo que además incluye una nueva hipótesis de trabajo orientada a los perfiles HIQs de los TGMM sobre los que tendría mayor eficacia.

CONCLUSIONES

Los resultados de los bioensayos demostraron la eficiencia de ambos modelos (MCBR y MCTE) son aptos para probar agentes terapéuticos contra los TGMM. Como modelo de investigación traslacional del cáncer, se presentan como un sistema competente, donde las biopsias diferidas que se analizan no se encuentran contaminadas con tratamientos previos que pudieran incidir en los datos. En consecuencia, permiten reposicionar medicamentos como antitumorales hormonales, el MCBR para adecuar dosis e intervalos según los momentos del ciclo sexual canino.

Ambos modelos aportan conocimiento sobre perfiles hormonales y reactividad inmunohistoquímica de los receptores hormonales, en el tejido mamario y en los procesos tumorales. Cuando se combinan con bioensayos en modelos murinos o *in vitro* evidencian un aumento de la productividad científica y la eficiencia para acelerar la transferencia de estudios preclínicos a ensayos clínicos en humanos y actualizar datos de prevalencia e incidencia de TGMM en la clínica oncológica veterinaria. Al incluir la recidiva como evento mediante controles médicos trimestrales proporcionan datos importantes a los pacientes que padecen la enfermedad aportando mayor certidumbre en los pronósticos en la clínica veterinaria.

Estos modelos constituyen una herramienta intermedia entre las posturas extremas sobre el bienestar animal, al aplicar las 3Rs al contribuir con aportes terapéuticos para la clínica oncológica veterinaria e incorporan aspectos centrales de la ética médica veterinaria como el respeto por el bienestar animal para investigaciones biomédicas y biotecnológicas (Mestrinho y Santos, 2021).

Los resultados obtenidos en estos modelos propuestos para la investigación oncológica son claves en el concepto de una sola salud (Lebov y col., 2017) ya que integrar y fomenta nuevos conocimientos en la medicina animal y humana.

BIBLIOGRAFÍA

Audisio, S. A., Vaquero, P. G., Torres, P. A., & Verna, E. C. Prevención, manejo y tratamiento del dolor quirúrgico. 2011. Disponible en: <https://repo.unlpam.edu.ar/handle/unlpam/132>

Benavente, M. A. Estudios sobre la población de receptores hormonales en neoplasias mamarias caninas y evaluación in vitro de terapias adyuvantes. Tesis Doctoral Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires. 2018. Disponible en: <https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/93480>

Burrai, G. P., Gabrieli, A., Moccia, V., Zappulli, V., Porcellato, I., Brachelente, C., ... & Antuofermo, E. A statistical analysis of risk factors and biological behavior in canine mammary tumors: a multicenter study. *Animals*. 2020; vol. 10(9): pag. 1687. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2076-2615/10/9/1687>

Chavalle, T., Chamel, G., Denoeux, P., Lajoinie, M., Sayag, D., Berny, P., & Ponce, F. Are severe adverse events commonly observed in dogs during cancer chemotherapy A retrospective study on 155 dogs. *Veterinary and Comparative Oncology*. 2022: Vol. 20(2);Pag:393-403. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/vco.12782>

Galac, S., Kooistra, H. S., Dieleman, S. J., Cestnik, V., & Okkens, A. C. Effects of aglepristone, a progesterone receptor antagonist, administered during the early luteal phase in non-pregnant bitches. *Theriogenology*. 2004; Vol. 62 (3-4): Pag: 494-500. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0093691X03004278>

Ghali, William A., et al. "Comparación de 2 métodos para calcular curvas de supervivencia ajustadas a partir de modelos de riesgos proporcionales". *Jama* 286.12 (2001): 1494-1497.

Goldschmidt, M., Peña, L., Rasotto, R., & Zappulli, V. Classification and grading of canine mammary tumors. *Veterinary pathology*. 2011; Vol. 48 (1): Pag:117-131. Disponible en: <https://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1177/0300985810393258>

Gobello, C., Castex, G., Klima, L., Rodríguez, R., & Corrada, Y. A study of two protocols combining Agleristone and cloprostenol to treat open cervix pyometra in the bitch. *Theriogenology*. 2003; Vol. 60(5); Pag:901-908. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0093691X03000943>

Gray, M., Meehan, J., Martínez-Pérez, C., Kay, C., Turnbull, A. K., Morrison, L. R., ... & Argyle, D. Naturally-occurring canine mammary tumors as a translational model for human breast cancer. *Frontiers in oncology*. 2020; Vol. 10: Pag:617. Disponible en: <https://europepmc.org/article/med/32411603>

Guil-Luna, S., Millán, Y., De Andres, J., Rollón, E., Domingo, V., García-Macías, J., ... & Martín de Las Mulas, J. Prognostic impact of neoadjuvant Aglepristone treatment in clinicopathological parameters of progesterone receptor-positive canine mammary carcinomas. *Veterinary and comparative oncology*. 2017; Vol. 15(2); Pag:391-399. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/vco.12175>

Hermo, G. A., Torres, P., Ripoll, G. V., Scursioni, A. M., Gomez, D. E., Alonso, D. F., & Gobello, C. (2008). Perioperative desmopressin prolongs survival in surgically treated bitches with mammary gland tumours: A pilot study. *The Veterinary Journal*. 2008; Vol. 178(1): Pag:1003-108. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1090023307002201>

Hermo, G., Villanueva, M., Segura, P., Alonso, D., & Gobello, C. Evaluación del efecto del antiprogéstágeno, Aglepristone, sobre la regresión tumoral y sobrevida en perras con tumores mamarios estadio V. *Anales de Veterinaria de Murcia*. 2009; Vol 25: Pag. 87-96. Disponible en: <https://revistas.um.es/analesvet/article/view/100211>

Kaplan, E. L., & Meier, P. (1958). Nonparametric estimation from incomplete observations. *Journal of the American statistical association*. 1958; Vol. 53(282): Pag.

- 457-481. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/01621459.1958.10501452>
- Knutson T, Truong T, Ma S, Brady N, Sullivan M, Raj G, Schwertfeger K, Lange C. Posttranslationally modified progesterone receptors direct ligand-specific expression of breast cancer stem cell-associated gene programs. *Journal of hematology & oncology*. 2017; Vol. 10(89). Disponible en: <https://jhoonline.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13045-017-0462-7>
- Lanari C, Lamb C, Fabris, V, Helguero L, Soldati R., Bottino M, Giulianelli, S, Cerliani J, Wargon, V. Molinolo A. The MPA mouse breast cancer mammary epithelial proliferation and carcinogenesis. *Nature*. 2009; Vol. 468: Pag. 103–107. Disponible en: <https://europepmc.org/article/med/19190078>
- Lebov J, Grieger K, Womack D, Zaccaro D, Whitehead N, Kowalczyk B, MacDonald PDM. A framework for One Health research. *One Health*. 2017; Vol. 3: Pag.44-50. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2352771416300696>
- Mahvi, D. A., Liu, R., Grinstaff, M. W., Colson, Y. L., & Raut, C. P. Local cancer recurrence: the realities, challenges, and opportunities for new therapies. *CA: a cancer journal for clinicians*. 2018; Vol.68(6): Pag.488-505. Disponible en: <https://acsjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.3322/caac.21498>
- Melin, M., Rivera, P., Arendt, M., Elvers, I., Murén, E., Gustafson, U., ... & Lindblad-Toh, K. Genome-wide analysis identifies germ-line risk factors associated with canine mammary tumours. *PLoS Genetics*. 2016; Vol. 12(5): e1006029. Disponible en: <https://journals.plos.org/plosgenetics/article?id=10.1371/journal.pgen.1006029>
- Mestrinho, L. A., & Santos, R. R. Translational oncotargets for immunotherapy: From pet dogs to humans. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2021; Vol. 172: Pag. 296-313. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0169409X21000673>
- Misdorp, W. Histological classification of the mammary tumors of the dog and the cat. *World Health Organization International Histological Classification of Tumors of Domestic Animals second series*. 1999; Vol. 7: Pag. 1-59.
- Owen, L. N., & World Health Organization. (1980). *TNM Classification of Tumours in Domestic Animals*/edited by LN Owen (No. VPH/CMO/80.20). World Health Organization. Papich, M. G. Table of common drugs: approximate dosages. *Kirk's current veterinary therapy*. 2009; Vol.12: Pag.1429-1446. Disponible en: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/68618/VPH_CMO_80.20_eng.pdf
- 1.Russell, W. M. S., & Burch, R. L. *The principles of humane experimental technique*. Methuen. 1959. Disponible en: <https://caat.jhsph.edu/principles/foreword>
- Sobol, N. T., Solernó, L. M., Beltrán, B., Vásquez, L., Ripoll, G. V., Garona, J., & Alonso, D. F. Anticancer activity of repurposed hemostatic agent desmopressin on AVPR2-expressing human osteosarcoma. *Experimental and Therapeutic Medicine*. 2021; Vol. 21(6): Pag. 1-11. Disponible en: <https://www.ingentaconnect.com/content/sp/etm/2021/00000021/00000006/art00106>
- Sonnenschein, E. G., Glickman, L. T., Goldschmidt, M. H., & McKee, L. J. (1991). Body conformation, diet, and risk of breast cancer in pet dogs: a case-control study. *American journal of epidemiology*. 1991; Vol.133(7): Pag.694-703. Disponible en: <https://academic.oup.com/aje/article-abstract/133/7/694/138832>

Stratmann, N., Failing, K., Richter, A., & Wehrend, A. Mammary tumor recurrence in bitches after regional mastectomy. *Veterinary Surgery*. 2008; vol. 37(1): pag. 82-86. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1532-950X.2007.00351.x>

Torres, P. A. Efecto de la extenion de la cirugía y un antimetastásico en la progresion de tumores y de un antiprogesterano en glandula mamaria canina. Tesis doctoral. 2009. Disponible en: <https://repo.unlpam.edu.ar/handle/unlpam/918>

Valdivia, G., Alonso-Diez, Á., Pérez-Alenza, D., & Peña, L. From conventional to precision therapy in canine mammary cancer: a comprehensive review. *Frontiers in Veterinary Science*. 2021; Vol. 8 (623800). Disponible en: <https://europepmc.org/article/med/33681329>

Vaquero P, Torres P, Audisio S, Lacolla D, García M, Moiraghi L, Verna E, Meder A, Lattanzi D, Miguel C, Mengelle, P. Avances del estudio de tratamiento de neoplasias mamarias malignas en perras ovariectomizadas en estadios iniciales con AGLÉpristone. X Jornadas de Ciencia y Técnica: III Jornada Interinstitucional. Facultad de Ciencias Veterinarias- Facultad de Ingeniería; - 1a ed. - Santa Rosa: Universidad Nacional de La Pampa. 2017; Pág. 92: ISBN 978-950-863-314-9. Disponible en: http://www.vet.unlpam.edu.ar/media/uploads/files/2019-06-12_122333.775074-bLibro_resumenes_Jornada_CyT_469.pdf

Vaquero P, García M, Lacolla D, Velez C, Audisio S, Brizotto B, Corrada Y, Torres P. Estudio inmunohistoquímico del efecto del antagonista de progesterona en glándulas mamarias en caninos. XII Jornadas y Reunión Anual de la Asociación Argentina de Inmunología Veterinaria los Universidad Nacional de La Plata. Facultad de Ciencias Veterinarias Universidad Nacional de La Plata. 2019; eISSN 1852-771X. Disponible en: <https://rid.unrn.edu.ar/handle/20.500.12049/7548>

Weinberg, R. S., Grecco, M. O., Ferro, G. S., Seigelshifer, D. J., Perroni, N. V., Terrier, F. J., ... & Alonso, D. F. A phase II dose-escalation trial of perioperative desmopressin (1-desamino-8-d-arginine vasopressin) in breast cancer patients. *Springerplus*. 2015; Vol. 4: Pag.1-8. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1186/s40064-015-1217-y>

Workman, P., Aboagye, E. O., Balkwill, F., Balmain, A., Bruder, G., Chaplin, D. J., Double, J. A., Everitt, J., Farningham, D. A. H., Glennie, M. J., Kelland, L. R., Robinson, V., Stratford, I. J., Tozer, G. M., Watson, S., Wedge, S. R., & Eccles, S. A. Guidelines for the welfare and use of animals in cancer research. *British journal of cancer*. 2010; Vol. 102(11): Pag. 1555-1577. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/6605642>

Documentos:

OHHLEP, One Health High-Level Expert Panel. 2022. En <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/one-health>

OIE, Organización Mundial de Sanidad Animal. El control de las poblaciones de perros vagabundos. En: Código Sanitario para los Animales Terrestres. Manejo de poblaciones de perros. 2022; Capitulo 7.7. Disponible en: https://www.woah.org/es/que-hacemos/normas/codigos-y-manuales/acceso-en-linea-al-codigo-terrestre/?id=169&L=1&htmlfile=chaptre_aw_stray_dog.htm

falta agregar:

Contribuciones de autor:

Conflicto de intereses

Agradecimientos

Financiamiento: