

EVALUACIÓN DEL EFECTO DEL ANTIPROGESTÁGENO, AGLEPRISTONE, SOBRE LA REGRESIÓN TUMORAL Y SOBREVIDA EN PERRAS CON TUMORES MAMARIOS ESTADÍO V

Assessment of aglepristone in dogs with mammary tumors stage V

Guillermo Hermo^{1,3*}, Miriam Villanueva², Pablo Segura², Daniel Alonso¹, Cristina Gobello³

¹ Laboratorio de Oncología Molecular, Departamento de Ciencia y Tecnología, Universidad Nacional de Quilmes. ² Servicio de Radiología y ³ Laboratorio de Fisiología Reproductiva, Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata.

* **Autor para correspondencia:** Med. Vet. Guillermo A. Hermo. E-mail: ghermo@unq.edu.ar

RESUMEN

Las metástasis pulmonares de tumores mamarios son generalmente la causa de muerte en las mascotas que padecen una neoplasia de glándula mamaria. Esto marca la importancia en la búsqueda de nuevos tratamientos, enfocados a la modulación de blancos moleculares, con una acción predominante en la estabilización o regresión de la enfermedad metastásica. En este estudio se evaluaron 20 perras en estadio clínico V. Las perras fueron distribuidas aleatoriamente en uno de los siguientes grupos. Aglepristone (Alizine®, Virbac, Francia) (Agle, n = 10) o placebo (PLCB n = 10). El análisis de supervivencia por el método de Kaplan-Meier indicó que aglepristone no prolongó la mediana del tiempo de supervivencia general (Agle. 13 días vs. PLCB 14,5 días (P = 0,8)). Este patrón de aplicación de aglepristone no fue eficaz en el tratamiento de metástasis de tumores de mama caninos. Teniendo en cuenta los efectos positivos de los antagonistas de la progesterona en otras especies con tumores en la glándula mamaria, no descartamos que otro esquema de tratamiento pudiera tener un efecto beneficioso sobre la hembra canina portadora de metástasis de una neoplasia de glándula mamaria.

Palabras clave: metástasis, neoplasia, glándula mamaria, aglepristone, tratamiento

ABSTRACT

Pulmonary metastasis of breast tumours is usually the cause of death in pets suffering a mammary gland neoplasm. This marks the importance of finding new treatments, focusing on the modulation of molecular targets, with a predominant in the stabilization or regression of metastasis disease. In this study included 20 dogs with mammary tumours in V clinical stage. The dogs were randomly placed in one of the following

treatments. Aglespristone (Alizine ®, Virbac, France) (Agle, n = 10) or placebo (PLCB n = 10). Survival analysis by Kaplan-Meier method indicated that aglepristone not extended the median time of general survival (Agle. 13 days vs PLCB 14.5 days (P = 0.8). This application pattern in the aglepristone treatment in metastasis of canine breast tumours was not effective. Knowing the positive effects that some studies showed in mammary gland tumours treated with progesterone antagonist in other species; do not rule out that another treatment schedule might have a beneficial effect on the female dog.

Key word: metastasis, neoplasm, mammary gland, aglepristone, treatment

INTRODUCCIÓN

Las metástasis pulmonares de tumores mamarios son generalmente la causa de muerte en las mascotas que padecen una neoplasia de glándula mamaria (NGM). Esto marca la importancia de la búsqueda de nuevos tratamientos, enfocados a la modulación de blancos moleculares (moléculas, sintetizadas y/o liberadas por las células cancerosas que permiten detectar la presencia de células tumorales así como dirigir un tratamiento específico hacia esa molécula), con una acción predominante en la estabilización o regresión de la enfermedad metastásica. Existe una tendencia creciente hacia la incorporación de nuevos compuestos selectivos combinados a los tratamientos convencionales con el objetivo de incrementar el tiempo de supervivencia general (SG) (Hermo, 2004).

No existe unanimidad ni información respecto al tratamiento a realizar en perras con metástasis de NGM, por lo que en condiciones prácticas, generalmente, no se realiza tratamiento alguno. La presencia de receptores hormonales (RH) es ampliamente conocida en NGM primarias caninas (Nieto y cols., 2000; Martín de las Mulas y cols., 2002; Martín de las Mulas y cols., 2003; Martín de las Mulas y cols., 2004; Millanta y cols., 2005; Thuóczy y cols., 2007), no obstante no existe información con respecto a la presencia RH en las metástasis de esta especie.

Los competidores de los receptores de progesterona (RP) como el onapristone (ZK 98.299), el mifepristone (RU 486) y el ZK 112.993 demostraron ser potentes inhibidores

de los tumores mamarios y sus metástasis en roedores (Schneider y cols., 1992; Montecchia y cols., 1999; Vanzulli y cols., 2005) y en líneas celulares humanas (Schneider y cols., 1990). También los antiprogéstágenos se han utilizado en pacientes humanos con metástasis de tumores mamarios con resultados favorables. Un estudio con mifepristone demostró regresión parcial o estabilización de las metástasis en un 53 % de las mujeres afectadas (Maudelonde y cols., 1987). Otros trabajos con estas drogas en la misma especie evidenciaron estabilización de la enfermedad (Maudelonde y cols., 1987; Michna y cols., 1989; Bakker y cols., 1990; Horwitz 1992). El aglepristone (RU 534) es un bloqueante de los RP disponible en el mercado veterinario mundial. En la perra, el aglepristone es un antagonista competitivo con la progesterona respecto al RP (Van Look y Bygdeman, 1989). En los RP uterinos, se ha observado que el aglepristone tiene una tasa de fijación tres veces mayor a la de la hormona endógena sin tener actividad antiglucocorticoide (Philibert, 1994). El aglepristone se lo utiliza actualmente para protocolos de aborto (Galac y cols., 2000; Fieni y cols., 2001), inducción del parto (Corrada y cols., 2005), complejo hiperplasia endometrial quística/piometra (Gobello y cols., 2003) y acromegalia en caninos (Bati y cols., 2006); En felinos la utilización se restringe actualmente a la fibroadenomatosis mamaria (Görlinger y cols., 2002).

No existen, en la hembra canina, estudios similares usando antiprogéstágenos en animales con cáncer, por lo que el objetivo del presente ensayo clínico piloto fue evaluar el efecto del

antiprogéstágeno, aglepristone, sobre la SG, en perras con tumores mamarios estadio en V (animales portadores de metástasis de NGM, independientemente de la presencia o no de un tumor primario, tamaño de este, compromiso o no de ganglios linfáticos regionales) (Rutteman y cols., 2001).

MATERIALES Y MÉTODOS

Animales

Se incluyeron en este estudio 20 perras mestizas o de diferentes razas, enteras, de 8 y 15 años y 5 a 40 kg en estadio clínico V (Rutteman y cols., 2001), que previamente tenían antecedentes de haber sido intervenidas quirúrgicamente debido a la presencia de adenocarcinomas de glándula mamaria, y que al momento de ingresar en el protocolo presentaron signos radiológicos de metástasis pulmonares (Thrall 2001) durante los años 2005-2008 (**figuras 1-10**). Se registró el número y tamaño de cada una de las masas mamarias. Este estudio fue realizado de acuerdo con las normas internacionales en el trato de animales para ensayos clínicos. Los propietarios firmaron consentimientos para la realización de este protocolo terapéutico.

Estudios radiológicos

Las metástasis pulmonares de tumores mamarios fueron diagnosticadas presuntamente mediante estudios radiológicos con tiempo de exposición de 10 MA/s en 4 centésimas de segundo y ajustando la penetración (KV) de acuerdo al caso (Siemens Heliophos-4® de 240 M/A – 125 K/V; Berlín, Alemania). Los animales fueron evaluados previo al estudio con al menos una radiografía torácica al final de la inspiración en posición latero lateral izquierda y derecha, y en los pacientes que era posible (escasa o nula disnea) se realizó una incidencia ventro dorsal (Therasse y cols., 2000). Cada una de las masas pulmonares radiodensas fue-

ron registradas y medidas antes y durante el estudio (Therasse y cols., 2000).

Para evaluar una respuesta objetiva fue estimada la carga tumoral total (metástasis + tumores primarios en algunos casos) (Therasse y cols., 2000). La interpretación radiográfica incluyó la medición cuantitativa de los nódulos en número y volumen ($V = 4/3 \pi.r^3$) (WHO 1979).

Protocolo terapéutico

Las perras fueron ubicadas aleatoriamente en uno de los siguientes tratamientos. Aglepristone (Alizine®, Virbac, Francia): 10 mg/kg vía subcutánea cada 24 horas durante 10 días, continuando con la misma dosis semanalmente hasta la muerte del animal (AGLE; n = 10).

Placebo: correspondiente volumen (0,33 cc/kg) de vehículo vía subcutánea con igual régimen de administración (PLCB; n = 10).

Seguimiento

Las hembras se evaluaron clínicamente, en búsqueda de aparición de nuevas lesiones y/o cambios en el tamaño de las metástasis pulmonares y tumores primarios (si es que co-existían), cada 7 días o más frecuentemente si aparecían cambios clínicos o radiológicos notables. El examen radiográfico se realizó cada 14 días como intervalo máximo o más frecuentemente si aparecían cambios clínicos, hasta al muerte del animal.

El criterio para medir la respuesta al tratamiento fue: remisión completa (resolución total de toda evidencia clínica o radiográfica), remisión parcial y libre de progresión (reducción > 50 % del volumen tumoral y sin lesiones nuevas, enfermedad estable (reducción del volumen tumoral inicial < 50 % o incremento de la carga < 25 %) o enfermedad progresiva (incremento del volumen tumoral > 25 % o aparición de lesiones nuevas (Chun y cols., 2001).



Figura 1: Radiografía de tórax en posición latero-lateral derecha, con metástasis pulmonares con un patrón de diseminación miliar, antes de entrar en protocolo.



Figura 2: Radiografía de tórax en posición latero-lateral derecha, con metástasis pulmonares con un patrón de diseminación nodular más efusión pleural, antes de entrar en protocolo.



Figura 3: Radiografía de tórax en posición latero-lateral derecha, con metástasis pulmonares con un patrón de diseminación nodular, antes de entrar en protocolo.



Figura 4: Radiografía de tórax en posición latero-lateral derecha, con metástasis pulmonares con un patrón de diseminación nodular más efusión pleural, antes de entrar en protocolo.



Figura 5: Radiografía de tórax en posición latero-lateral derecha, con metástasis pulmonares con un patrón de diseminación nodular, antes de entrar en protocolo.

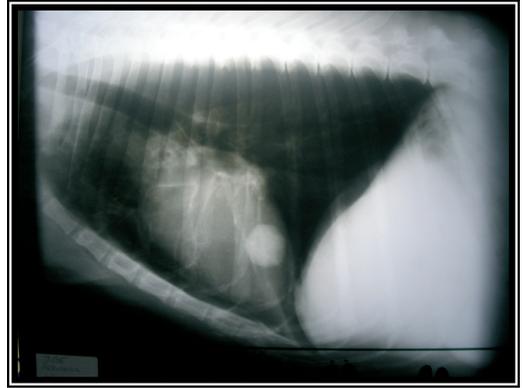


Figura 6: Mismo animal de la **Figura 6** luego de 15 días de tratamiento con aglepristone. Se observan metástasis pulmonares con un patrón de diseminación nodular. Se observa una enfermedad progresiva respecto a la **Figura 6**.

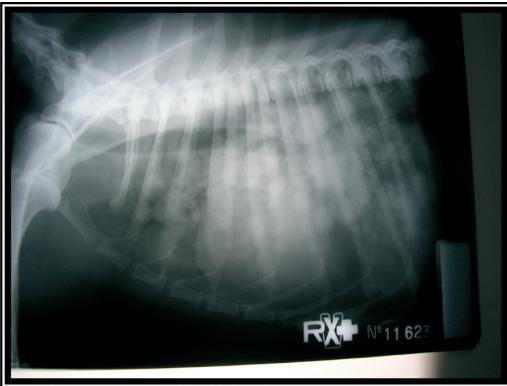


Figura 7: Radiografía de tórax en posición latero-lateral derecha, con metástasis pulmonares con un patrón de diseminación nodular, antes de entrar en protocolo.

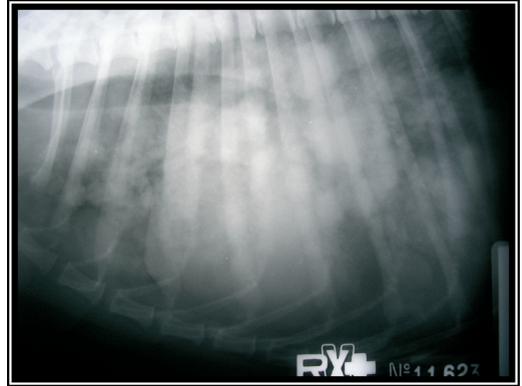


Figura 8: Mismo animal de **Figura 8** luego de 15 días de tratamiento con placebo. Se observan metástasis pulmonares con un patrón de diseminación nodular. Se observa una enfermedad estable respecto a la **Figura 8**.

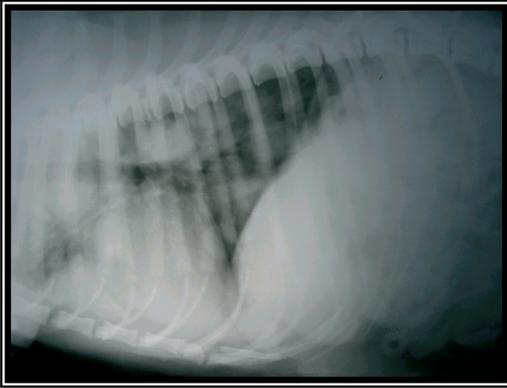


Figura 9: Radiografía de tórax en posición latero-lateral derecha, con metástasis pulmonares con un patrón de diseminación nodular, antes de entrar en protocolo.



Figura 10: Mismo animal de **Figura 9** luego de 50 días de tratamiento con aglepristone. Persisten metástasis pulmonares con patrón de diseminación nodular. Se observa una enfermedad progresiva respecto a la **Figura 9**.

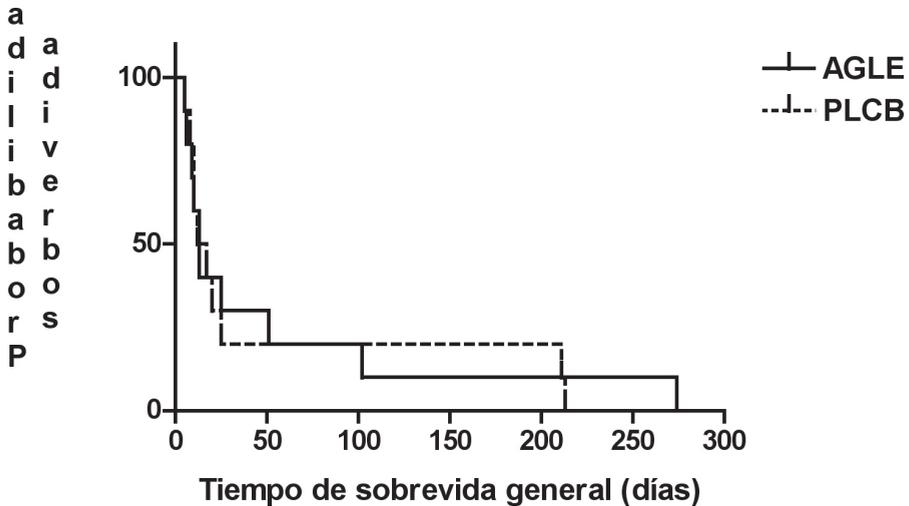


Figura 11: Curva de Kaplan-Meier de probabilidades de SG de perras tumores mamarios malignos con metástasis pulmonares tratadas con aglepristone (AGLE, n = 10) o con placebo (PLCB, n = 10). No se observan diferencias significativas entre los animales de los diferentes grupos p: 0,82 (test log-rank).

Análisis estadístico

Para verificar la comparabilidad de los grupos tratados, comparaciones respecto a la edad de los animales, peso, cantidad de nódulos pulmonares, volumen total de la masa tumoral, dispersión de los nódulos, presencia o ausencia de efusión pleural, presencia de un tumor primario en alguna mama y respuesta al tratamiento (RC, RP, EE, EP) se desarrolló el test de ANOVA para las variables continuas y el test de chi cuadrado para variables cualitativas usando el software GraphPad InStat. La influencia de esas variables sobre la SG también fue evaluada por un análisis multivariado de regresión logística. La SG se definió como el tiempo transcurrido desde el inicio del tratamiento hasta la muerte del animal. La curva de SG se estimó mediante el método de Kaplan-Meier (Kaplan y Meier 1958) y la comparación de los grupos por el log-rank test. El nivel de significancia se fijó en 0,05.

RESULTADOS

En ambos grupos de animales se encontró una similar distribución de los casos respecto a la edad de los animales ($P > 0,1$), peso ($P > 0,1$), cantidad de nódulos pulmonares ($P > 0,1$), volumen total de la masa tumoral ($P > 0,1$), dispersión de los nódulos ($P > 1$), presencia o ausencia de efusión pleural ($P = 1$), presencia de un tumor primario en alguna mama ($P = 1$) y respuesta al tratamiento ($P = 1$). El análisis multivariado de regresión logística reveló que ninguna de las variables analizadas influyó sobre el tiempo de SG ($P = 0,9$).

El análisis de Kaplan-Meier indicó que aglepristone no extendió la mediana del tiempo de SG (AGLE 13 días vs. PLCB 14,5 días, $P = 0,8$; **figura 11**). En ambos grupos 7/10 animales evolucionaron con enfermedad progresiva y 3/10 con enfermedad estable ($P = 1$). Solo una perra del grupo AGLE tuvo una remisión parcial en el primer control del protocolo para lue-

go evolucionar a enfermedad progresiva como el resto de los animales.

DISCUSIÓN

Este esquema de aplicación de aglepristone en el tratamiento de las metástasis de tumores de mama caninos no resultó efectivo. A pesar que uno de los animales del grupo aglepristone, presentó en el primer examen remisión parcial, no se logró observar beneficio en ese animal en las siguientes observaciones.

En los tumores primarios, y especialmente en las metástasis, predominan varias vías de señalización celular (Kazanietz 2000; Parker y Sukumar 2003) que gobiernan la progresión del tumor hacia la muerte del animal (Misdorp y Hart 1979; Albert y cols., 1994). Muchas veces al bloquear una de esas vías, el tumor puede compensar rápidamente esa vía por otra igual, o más efectiva y continuar su progresión (Horwitz 1994; Levav-Cohen y cols., 2005; Tokunaga y cols., 2006).

Dada la dificultad operativa, para obtener muestras de metástasis antes y después del tratamiento, no podemos adjudicar una verdadera falla al aglepristone, debido a que no conocemos la inmunoexpresión de RP en las metástasis de los animales estudiados. Tampoco conocemos la distribución de las isoformas predominantes y proteínas co-reguladoras, las cuales influyen fuertemente la respuesta al tratamiento. Tampoco fue posible en este trabajo, llevar a cabo estudios de biodisponibilidad de la droga dentro de las metástasis. Teniendo en cuenta que algunos casos tenían una marcada efusión pleural y edema pulmonar, podría ser posible que la droga no haya podido llegar al lugar adecuado donde tendría que producir su efecto.

Además, muchas drogas quimioterápicas manifiestan su acción produciendo cavitaciones dentro de los nódulos metastáticos. Este efecto positivo, es raramente visible por técnicas de radiología convencional, por lo que se requiere la utilización de tomografía computada conven-

cional o tomografía computada por emisión de positrones.

Conociendo los efectos positivos que demostraron algunos estudios de NGM con metástasis tratadas con antiprogesterinas en otras especies (Maudelonde y cols., 1987; Michna y cols., 1989; Bakker y cols., 1990; Vanzulli y cols., 2005), no descartamos que otro esquema de tratamiento (Ej.: aumentando la dosis o disminuyendo el intervalo de tiempo interaplicaciones entre los ciclos semanales), pueda tener algún efecto beneficioso en las hembras caninas. Sería importante, en el futuro, aumentar el número de animales en un ensayo clínico de estas características. Por lo expuesto, los resultados de este estudio preliminar no deberían frenar la continuación del estudio del efecto de los bloqueantes de receptores hormonales en animales que padecen/padecieron NGM, y recidivan con metástasis pulmonares.

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo fue parcialmente subsidiado por laboratorio Virbac, Francia. G. Hermo es becario de CONICET, resolución D N° 0027/08.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBERT R.E., BENJAMIN S.A., SHUKLA R. 1994. Life span and cancer mortality in the beagle dog and humans. *Mech Ageing Dev* 74:149-159.
- BAKKER G.H., SETYONO-HAN B., PORTINGEN H., DE JONG F.H., FOEKENS J.A., KLIJN J.G.M. 1990. Treatment of breast cancer with different antiprogesterins: preclinical and clinical studies. *J Steroid Biochem* 37:789-794.
- BHATTI S.F., DUCHATEAU L., OKKENS A.C., VAN HAM L.M., MOL J.A., KOOISTRA H.S. 2006. Treatment of growth hormone excess in dogs with the progesterone receptor antagonist aglépristone. *Theriogenology* 1:797-803.
- CORRADA Y., GARCÍA P., DE LA SOTA P.E., HUZMAN M., LANDONI M.F., GOBELLO C. 2005. Decrease of body temperature after aglepristone treatment in bitches. *Anim Reprod Sci* 87:295-299.
- FIENI F., MARNET P.G., MARTAL J., SILIART B., TOUZEAU N., BRUYAS J.F., TAINURIER D. 2001. Comparison of two protocols with a progesterone antagonist aglepristone (RU534) to induce parturition in bitches. *J Reprod Fertil Suppl* 57:237-242.
- GALAC S., KOOISTRA H.S., BUTINAR J., BEVERS M.M., DIELEMAN S.J., VOORHOUT G., OKKENS A.C. 2000. Termination of mid-gestation pregnancy in bitches with aglepristone, a progesterone receptor antagonist. *Theriogenology* 1:941-950.
- GOBELLO C., CASTEX G., KLIMA L., RODRÍGUEZ R., CORRADA Y. 2003. A study of two protocols combining aglepristone and cloprostenol to treat open cervix pyometra in the bitch. *Theriogenology* 15:901-908.
- GÖRLINGER S., KOOISTRA H.S., VAN DEN BROEK A., OKKENS A.C. 2002. Treatment of fibroadenomatous hyperplasia in cats with aglépristone. *J Vet Intern Med* 16:710-713.
- HAHN K.A. 2001. Practical indications and contraindications for tamoxifen. In: *Proceeding The North American Conference. Small Animal and Exotics*. W.B. Saunders Co., Orlando, Florida. 665-666.
- HARVEY H.J., GILBERTSON S.R. 1977. Canine mammary gland tumors. *Vet Clin North Am* 7:213-219.
- HERMO, G. 2004. Marcadores Tumorales de las Neoplasias Malignas en Veterinaria. *Selecciones Veterinarias* 12:274-281.
- HORWITZ K.B. 1992. The molecular biology of RU 486. Is there a role for antiprogesterins in the treatment of breast cancer?. *Endocr Rev* 13:146-163.
- HORWITZ K.B. 1994 How do breast cancers become hormone resistant?. *J Steroid Biochem Mol Biol* 49:295-302.

- ILLERA J.C., PÉREZ-ALENZA M.D., NIETO A., JIMÉNEZ M.A., SILVAN G., DUNNER S., PEÑA L. 2006. Steroids and receptors in canine mammary cancer. *Steroids* 71:541-548.
- KAZANIETZ M. 2000. Proteína quinasa C (PKC). *Farmacología Molecular: Receptores, transducción de señales y activación de genes*. 12. En: Editorial Universidad Nacional de Quilmes. 211-230.
- KAZANIETZ M. 2000. Receptores tirosina quinasa. *Farmacología Molecular: Receptores, transducción de señales y activación de genes*. 3. En: Editorial Universidad Nacional de Quilmes. 45-66.
- LEVAV-COHEN Y., HAUPT S., HAUPT Y. 2005. Mdm2 in growth signaling and cancer. *Growth Factors* 23:183-192.
- LONDON C.A., HANNAH A.L., ZADOVOSKAYA R., CHIEN M.B., KOLLIAS-BAKER C., ROSENBERG M., DOWNING S., POST G., BOUCHER J., SHENOY N., MENDEL D.B., MCMAHON G., CHERINGTON J.M. 2003. Phase I dose-escalating study of SU11654, a small molecule receptor tyrosine kinase inhibitor, in dogs with spontaneous malignancies. *Clin Cancer Res* 9:2755-2768.
- MAUDELONDE T., ROMIEU G., ULMANN A., PUJOL H., GRENIER J., KHALAF S., CAVALIE G., ROCHEFORD H. 1987. First clinical trial on the use of the antiprogestin RU486 in advanced breast cancer. En: Klijn JGM, Paridaens, R.; Foekens, J.A. (eds) *Hormonal Manipulation of Cancer Peptides, Growth Factors and New Anti-Steroidal Agents*. Raven Press, New York, 55.
- MARTÍN DE LAS MULAS J., ORDÁS J., MILLÁN M., CHACÓN F., DE LARA M., ESPINOSA DE LOS MONTEROS A., REYMUNDO C., JOVER A. 2004. Immunohistochemical Expression of Estrogen Receptor β in Normal and Tumoral Canine Mammary Glands. *Vet Pathol* 41:269-272.
- MARTÍN DE LAS MULAS J., ORDÁS J., MILLÁN Y., FERNÁNDEZ-SORIA V., RAMÓN R., CAJAL S. 2003. Oncogene HER-2 in canine mammary gland carcinomas: an immunohistochemical and chromogenic in situ hybridization study. *Breast Cancer Res Treat* 80:363-367.
- MARTÍN DE LAS MULAS J., VAN NIEL M., MILLÁN Y., ORDÁS J., BLANKENSTEIN M.A., VAN MIL F., MISDORP W. 2002. Progesterone receptors in normal, dysplastic and tumourous feline mammary glands. Comparison with oestrogen receptors status. *Res Vet Sci* 72:153-156.
- MILLANTA F., CALANDRELLA M., BARI G., NICCOLINI M., VANNOZZI I., POLI A. 2005. Comparison of steroid receptor expression in normal, dysplastic, and neoplastic canine and feline mammary tissues. *Res Vet Sci* 79:225-232.
- MICHNA H., SCHEIDER M.R., NISHINO Y., EL ETREBY M.F. 1989. The antitumor mechanism of progesterone antagonist is a receptor mediated antiproliferative effect by induction of terminal cell death. *J Steroid Biochem* 34:447-453.
- MILLANTA F., CALANDRELLA M., BARI G., NICCOLINI M., VANNOZZI I., POLI A. 2005. Comparison of steroid receptor expression in normal, dysplastic, and neoplastic canine and feline mammary tissues. *Res Vet Sci* 79:225-232.
- MISDORP W., HART A.A. 1979. Canine mammary cancer. II. Therapy and causes of death. *J Small Anim Pract* 20:395-404.
- MONTECCHIA M.F., MOLINOLO A., LANARI C. 1999 Reversal of estrogen-resistance in murine mammary adenocarcinomas. *Breast Cancer Res Treat* 54:93-99.
- NIETO A., PENA L., PEREZ-ALENZA M.D., SANCHEZ M.A., FLORES J.M., CASTANO M. 2000. Immunohistologic detection of estrogen receptor alpha in canine mammary tumors: clinical and pathologic associatio-

- ns and prognostic significance. *Vet Pathol* 37:239-247.
- OGILVIE G.K., REYNOLDS H.A., RICHARDSON R.C., WITHROW S.J., NORRIS A.M., HENDERSON R.A., KLAUSNER J.S., FOWLER J.D., MCCAWE D. 1989. Phase II evaluation of doxorubicin for treatment of various canine neoplasms. *J Am Vet Med Assoc* 1:1580-1583.
- PHILIBERT D. 1994. R.U 46534 Affinité relative de liaison pour les récepteurs stéroïdiens - activité antiprogestérone in vivo. Reporte de studio interno Roussel Uclaf.
- RUTTEMANG R., WITHROW S.J., MCEWEN E.G. 2001. Tumors of the Mammary Gland. En: Withrow SJ, Mc Ewen EG eds, Small Animal Clinical Oncology 3rd ed, WB Saunders, Philadelphia. 455-477.
- SCHNEIDER M.R., MICHNA H., HABENICHT U.F., NISHINO Y., GRILL H.J., POLLACK K. 1992. The tumour-inhibiting potential of the progesterone antagonist Onapristone in the human mammary carcinoma T61 in nude mice. *J Cancer Res Clin Oncol* 118:187-189.
- SCHNEIDER M.R., MICHNA H., NISHINO E.L., ETREBY M.F. 1990. Antitumor activity and mechanism of action of different antiprogestins in experimental breast cancer models. *J Steroid Biochem Mol Biol* 37:783-787.
- SUKUMAR P.B.S. 2003 Distant metastasis in breast cancer: molecular mechanisms and therapeutic targets. *Cancer Biol Ther* 2:14-21.
- THERASSE P., ARBUCK S.G., EISENHAUER E.A., WANDERS J., KAPLAN R.S., RUBINSTEIN L., VERWEIJ J., VAN GLABBEKE M., VAN OOSTEROM A.T., CHRISTIAN M.C., GWYTHYER S.G. 2000. New guidelines to evaluate the response to treatment in solid tumors. *J Natl Cancer Inst* 92:205-216.
- THRALL, D., DONALD E. 2001. Tratado de Diagnóstico Radiológico Veterinario. En: Editorial Intermedica. Buenos Aires. Argentina.
- THURÓCZY J., REISVAAG G.J., PERGE E., TIBOLD A., SZILÁGYI J., BALOGH L. 2007. Immunohistochemical detection of progesterone and cellular proliferation in canine mammary tumours. *J Comp Pathol* 137:122-129.
- TOKUNAGA E., KATAOKA A., KIMURA Y., OKI E., MASHINO K., NISHIDA K., KOGA T., MORITA M., KAKEJI Y., BABA H., OHNO S., MAEHARA Y. 2006. The association between Akt activation and resistance to hormone therapy in metastatic breast cancer. *Eur J Cancer* 42:629-635.
- VAN LOOK P.F., BYGDAMAN M. 1989. Anti-progestational steroids: a new dimension in human fertility regulation. *Oxf Rev Reprod Biol* 11:2-60.
- VANZULLI S.I., SOLDATI R., MEISS R., COLOMBO L., MOLINOLO A.A., LANARI C. 2005. Estrogen or antiprogestin treatment induces complete regression of pulmonary and axillary metastases in an experimental model of breast cancer progression. *Carcinogenesis* 26:1055-1063.
- WHO Handbook for reporting results of cancer treatment. 1979. Geneva (Switzerland): World Health Organisation. 1-45.