

Estudio de factores nutricionales asociados a la prevención de cáncer mamario. Importancia de los modelos animales

Pablo García-Solís y Carmen Aceves

Departamento de Neurobiología Celular y Molecular. Instituto de Neurobiología, Universidad Nacional Autónoma de México, Juriquilla, Querétaro, México

RESUMEN. El cáncer mamario es la neoplasia más común, en la mujer a nivel mundial y debido a que no se conoce su etiología no se ha logrado establecer una estrategia efectiva de prevención. Los principales factores de riesgo asociados al cáncer mamario se clasifican en: hereditarios, endocrino-reproductivos y factores ambientales; entre los que se incluye la dieta. Los modelos animales de inducción química de cáncer mamario con los carcinógenos 7, 12-dimetilbenzo[a]antraceno y N-metil-N-nitrosourea han sido de gran utilidad para el estudio de la biología del cáncer mamario así como de su tratamiento y prevención. En esta revisión presentamos la utilidad y ventajas de dichos modelos animales en el estudio de factores nutricionales asociados al cáncer mamario para la generación de estrategias de prevención. Se revisa brevemente diferentes estrategias y abordajes experimentales así como efectos fisiológicos y mecanismo de acción de algunos de los factores nutricionales estudiados con estos modelos de carcinogénesis mamaria. Los factores nutricionales que abordamos son: a) la restricción dietaria de energía y el exceso de grasa, b) la soya y los fitoestrógenos, c) los retinoides y carotenoides, d) el ácido linoleico conjugado, y e) las algas marinas y el yodo.

Palabras clave: Cáncer mamario, 7, 12-Dimetilbenzo[a]antraceno, N-metil-N-nitrosourea, nutrición, modelos animales.

SUMMARY. Study of nutritional factors related to breast cancer prevention. Importance of animal models approaches. Breast cancer is the most common worldwide neoplasia in women. The totality of etiology factors of breast cancer is unknown and thus an effective preventive strategy has not been developed. Risk factors associated to breast cancer can be grouped into three broad categories: a) family history (hereditary) factors, b) endocrine and reproductive factors and c) environmental and life-style factors including diet. Animal models of chemical induced mammary carcinogenesis with 7, 12-dimethylbenz[a]anthracene and N-methyl-N-nitrosourea have been useful in the study of biology, treatment and prevention of breast cancer. In this review we show the usefulness and advantages of animal models in the study of nutritional factors associated with breast cancer in order to propose new prevention strategies. We review briefly different experimental approaches as well as some physiologic effects and mechanisms of some nutritional factors studied with animal models of mammary carcinogenesis. Nutritional factors reviewed were: a) energy restriction and high-fat intake, b) soy and phytoestrogens, c) retinoids and carotenoids, d) conjugated linoleic acid, and e) brown seaweed and iodine.

Key words: Animal models, mammary cancer, 7, 12-Dimethylbenzanthracene, N-methyl-N-nitrosourea, nutrition.

INTRODUCCION

El cáncer mamario es la principal neoplasia que se presenta en la mujer tanto en los países desarrollados como en aquellos en vías de desarrollo (1). En la actualidad a pesar de los esfuerzos encaminados para conocer la etiología del cáncer mamario aún no se conoce la totalidad de los factores de riesgo y por lo tanto no se ha logrado establecer una estrategia sólida de prevención (1,2). Los factores de riesgo asociados al cáncer mamario se han agrupado en tres grandes determinantes que son: a) la historia familiar (herencia), b) factores endocrinos y reproductivos y c) factores ambientales donde se incluye el estilo de vida y la dieta (1-3). Los factores hereditarios solo explican del 5 al 10% de la incidencia mundial del cáncer mamario y se han identificado genes involucrados en la susceptibilidad a padecer esta enfermedad, como son el *BCRA1*, el *BCRA2*, *p53* y *PTEN* (3). Entre los factores de

riesgo de tipo endocrino y reproductivo se encuentran la menarca temprana, la menopausia tardía, la nuliparidad, el uso de terapia estrogénica de reemplazo y el uso de anticonceptivos hormonales. En contraste, la menarca tardía, la menopausia temprana y el embarazo antes de los 20 años están asociados a un menor riesgo padecer esta enfermedad (1,4). En relación a los factores ambientales, el más importante que ha sido señalado en la etiología del cáncer mamario es la dieta (5). Estudios epidemiológicos en migrantes mostraron la primera evidencia sólida de que los factores ambientales son los principales responsables de la diferencia de incidencia de cáncer mamario presente en las diversas poblaciones del mundo (1). Se ha observado en poblaciones de mujeres asiáticas, que comúnmente presentan una baja incidencia de cáncer mamario en sus países de origen, cuando inmigran a Estados Unidos, incrementan el riesgo y la incidencia de esta enfermedad en las generaciones sucesivas (6). Adicionalmente

también se ha observado un incremento en el riesgo y la incidencia de cáncer mamario en los países en vías de desarrollo asociados a cambios en el estilo de vida que tienden a semejar el perfil de riesgo que se presenta en los países desarrollados (1). En base a los diversos estudios epidemiológicos se han señalado varios factores nutricionales asociados al cáncer mamario, algunos de ellos como componentes de los alimentos y otros que corresponden a la dieta en su conjunto (5). Algunos de los factores nutricionales señalados que aumentan el riesgo de cáncer mamario son: 1) la obesidad, 2) el alto consumo de grasa total y grasa saturada, 3) el consumo de carne al carbón quemada o muy cocida, y 4) la ingesta de alcohol (5,7). En contraste, los factores que reducen el riesgo son: 1) el consumo de frutas y verduras, 2) el consumo de carotenoides, 3) el consumo de soya y algas marinas, 4) el consumo de fibra y 5) el aumento de la actividad física (5, 7-9). El objetivo de la presente revisión es presentar un panorama general de la utilidad de los modelos animales en el estudio de los factores nutricionales asociados al cáncer mamario para generar estrategias de prevención de esta enfermedad. Se hace énfasis en las diferentes estrategias y abordajes experimentales así como en la descripción de los efectos fisiológicos y mecanismos de acción de los factores nutricionales con la idea de resaltar la utilidad y potencial del modelo animal. Los factores nutricionales que abordamos en esta revisión son: a) la restricción dietaria de energía y el consumo de grasa, b) la soya y los fitoestrógenos, c) los retinoides y carotenoides, d) el ácido linoleico conjugado; y e) las algas marinas y el yodo. Existen otros muchos factores nutricionales asociados al cáncer mamario que no se tratan en esta revisión pero que podemos mencionar como son: los monoterpénos, la vitamina E, el 3-indol-carbinol, el selenio, ácidos grasos n-3, proteínas de la fracción ácida de la leche y el aislado de proteína de soya (10-16).

Modelos animales utilizados en el estudio del cáncer mamario

El cáncer mamario humano se caracteriza por una heterogeneidad morfológica, genética y molecular. De hecho las lesiones premalignas e invasivas que pueden ocurrir en la glándula mamaria humana presentan diferentes características bioquímicas y moleculares, por lo que se considera al cáncer mamario como un conjunto de enfermedades (17). Por esto, no se puede considerar que un solo modelo animal pueda abarcar todo el espectro de características presentes en los tipos de cáncer mamario humano. Afortunadamente existen modelos animales de inducción de cáncer mamario que reúnen ciertas características que los hacen de gran utilidad en el estudio de diversos aspectos de esta enfermedad como son: a) desarrollo en corto tiempo de los tumores, b) los tumores se desarrollan principalmente en la glándula mamaria, c) el carcinógeno causa un pobre o nulo efecto tóxico sistémico; y d) los tumores

mamarios tienen un origen histológico y de características patológicas similares a las que se presentan en la mayoría de los casos de cáncer mamario humano (17). Las especies utilizadas en los modelos animales de cáncer mamario son el ratón y la rata. En esta revisión nos ocuparemos principalmente de los modelos de inducción química de cáncer mamario en rata donde se utilizan los carcinógenos *N*-metil-*N*-nitrosourea (MNU) o el 7, 12-Dimetilbenzo[*a*]antraceno (DMBA).

Tanto el MNU como el DMBA han sido ampliamente utilizados para el estudio de factores tanto preventivos como terapéuticos, los resultados son altamente reproducibles y reúnen las características anteriormente señaladas para un buen modelo animal de cáncer mamario (17,18). En estos modelos de inducción química de cáncer mamario en ratas, se utilizan hembras preferentemente de 50 días de edad y de la cepa Sprague Dawley. En el modelo del MNU se utiliza una sola dosis intraperitoneal de 50 mg de MNU por kg de peso corporal y en el caso del DMBA se aplica una sola dosis intragástrica con 20 mg por rata (18). Existen diferencias importantes entre el MNU y DMBA que vale la pena destacar. Por un lado el MNU es un agente alquilante que actúa directamente en el DNA generando mutaciones. Por su parte el DMBA requiere ser activado por las enzimas de detoxificación de fase I y fase II para adquirir su capacidad genotóxica. El modelo de DMBA es muy útil para identificar agentes que inhiban la activación de los carcinógenos, como sería la inhibición de la citocromo p-450. Otra diferencia importante es que mientras que los tumores generados por el MNU son principalmente adenocarcinomas con limitado potencial metastático, los tumores inducidos por DMBA son de dos tipos, el 60% de tipo adenocarcinoma y el 40% de tipo fibroma que son encapsulados y no invasivos (19,20).

Con estos modelos animales se pueden desarrollar protocolos tanto de tipo terapéutico como preventivo. Los protocolos de tipo terapéutico se caracterizan por aplicar los carcinógenos y esperar a que los tumores se desarrollen y alcancen un tamaño determinado. Posteriormente, la eficacia del agente terapéutico se evalúa observando su impacto sobre el crecimiento y/o tamaño final de los tumores. Por otra parte, en un experimento típico de prevención, se contrastan los efectos sobre la respuesta al carcinógeno de un potencial agente preventivo con un grupo control que recibe un tratamiento placebo. La respuesta al carcinógeno se evalúa midiendo cuantos animales desarrollaron tumores (incidencia), el número de tumores por rata, la latencia de aparición del primer tumor, el crecimiento de los tumores y el tamaño final de los mismos. Este tipo de experimentos arrojan los resultados en un periodo de 4 meses después de aplicado el carcinógeno y son especialmente útiles para evaluar el efecto de factores nutricionales involucrados en el desarrollo de cáncer mamario (19,20).

Sporn et al. (21) a través de una serie de estudios con

retinoides acuñó el término de la quimioprevención del cáncer. Este término se define como la prevención de cáncer en la población humana por la ingestión de agentes químicos que previenen la carcinogénesis (22). Estos agentes pueden prevenir la iniciación de la transformación o retrasar la promoción y el progreso de las células premalignas. Para que el agente preventivo realice su papel debe aumentar los procesos fisiológicos que protegen al organismo contra el crecimiento de las células anormales con potencial para desarrollar un cáncer invasivo. Los esfuerzos encaminados hacia una prevención del cáncer mamario han visto recompensas parciales como el uso clínico de prevención con el antiestrógeno; tamoxifeno. El uso de este compuesto reduce la incidencia de cáncer mamario en mujeres de alto riesgo pero lamentablemente aumenta la incidencia de cáncer de endometrio (23). Actualmente se está probando otro antiestrógeno denominado raloxifeno, así como muchos otros fármacos que buscan mayor efectividad y menos efectos colaterales (24). Una estrategia alternativa de prevención de cáncer mamario, generada a partir de los estudios de los factores nutricionales, que puede ser muy útil es el uso de los llamados "alimentos funcionales". Los alimentos funcionales se pueden definir como alimentos semejantes en apariencia al alimento convencional, que se consume como parte de una alimentación normal y que es capaz de producir efectos metabólicos o fisiológicos comprobados, que proporcionan una buena salud y/o la reducción de riesgos de enfermedades crónico-degenerativas, además de sus funciones nutricionales básicas (25). Uno de ejemplo de este tipo de alimentos es la leche adicionada con probióticos (lactobacilos y bifidobacterias) que ayudan a mantener el balance de la flora intestinal (25). El uso de esta estrategia tiene el potencial de proveer de manera relativamente económica un agente preventivo no tóxico que se mantenga en el suero y tejidos en cantidades efectivas para reducir la incidencia de cáncer mamario y de otros tipos.

Restricción dietaria de energía y exceso de grasa

La restricción dietaria de energía (RDE) y el alto consumo de grasa son dos de los factores nutricionales asociados al cáncer mamario más estudiados con los modelos animales. Mientras que la RDE es un potente inhibidor de la carcinogénesis, el alto consumo de grasa (20-25% del peso total del alimento) hace lo opuesto (26-28). Los primeros estudios que abordaron estos temas no diferenciaban plenamente el efecto del consumo total de energía y el consumo de la energía proveniente de la grasa (28-30). Fay y Freedman (26) con el uso de la técnica de meta-análisis mostraron que el alto consumo de grasa aumenta la incidencia de cáncer mamario independientemente del aumento en el consumo total de energía pero también el exceso del consumo total de energía per se aumenta la incidencia tumoral. Otro

aspecto importante a considerar es que este efecto promotor de la grasa no se aplica a todas las familias de ácidos grasos. Los ácidos grasos poliinsaturados n-6 y los saturados se asocian fuertemente a una mayor carcinogénesis mamaria mientras que los monosaturados no tienen efecto y los poliinsaturados n-3 la disminuyen (26,28). Los mecanismos por los cuales el exceso de grasa en la dieta aumenta la carcinogénesis mamaria no se conocen a pesar de que se han investigado varios aspectos cuyos resultados más relevantes son los siguientes: a) Los niveles circulantes de estrógenos y progesterona no se modifican; b) No hay alteraciones en los ciclos estrales; c) las ratas ovariectomizadas presentan la misma respuesta que las ratas control; d) El contenido de prolactina en suero e hipófisis no sufre cambios; y e) La proliferación celular en el epitelio mamario no se altera (28).

En general se acepta que las dietas altas en grasa aumentan la carcinogénesis mamaria en los modelos animales sin embargo los resultados arrojados por estudios epidemiológicos no permiten concluir que esto mismo ocurra en el humano (26,28,29).

Carroll y Kohr (31) mostraron una correlación directa entre en la disponibilidad nacional per cápita de fuentes dietarias de grasa y los índices de mortalidad e incidencia de cáncer mamario. Este tipo de estudios ecológicos no permiten hacer inferencias causales porque hay muchos otros factores diferentes entre las poblaciones que podrían contribuir al riesgo de cáncer y el consumo de grasa. Por su parte los estudios de casos y controles realizados han arrojado resultados contradictorios debido en parte al tamaño de la muestra y al método de recolección de la información dietaria (32). Los estudios de cohorte han concluido que el alto consumo de grasa no contribuye de manera significativa en el riesgo de cáncer mamario (32). Este tipo de discrepancias tan contrastantes entre los hallazgos obtenidos experimentalmente y los estudios epidemiológicos deben propiciar un mayor acercamiento entre los estudiosos de este tema para desarrollar nuevas hipótesis y proponer soluciones utilizando tanto los modelos animales como las técnicas epidemiológicas (29).

Por otra parte, la RDE se considera uno de los más potentes factores fisiológicos conocidos para la prevención de cáncer mamario inducido experimentalmente. Sin embargo, los mecanismos por los que la RDE ejerce sus efectos apenas se empiezan a dilucidar (27). La RDE en los modelos animales de cáncer mamario por lo general indica una reducción del consumo de energía de la dieta suponiendo que el gasto energético permanece constante. En algunas ocasiones el término de RDE es referido como restricción de calorías, restricción energética, restricción de alimento o restricción dietaria. La restricción de alimento y la restricción dietaria no forzosamente son sinónimos de la RDE, ya que aquellos suponen una reducción del consumo de energía a través de limitar el consumo total de alimento afectando el consumo de

otros nutrimentos no energéticos. En cambio la RDE supone solo la reducción en el consumo total de energía sin afectar el consumo de los demás nutrimentos (27). Los protocolos de RDE están diseñados por lo general en una reducción del contenido de hidratos de carbono en el alimento con horarios controlados de alimentación y los animales están separados en jaulas individuales. La cantidad total de alimento ofrecida a los animales con RDE se calcula cada dos días basados en la cantidad consumida de alimento los dos días previos por grupo alimentado ad libitum (33). Cabe señalar además que la RDE no implica forzosamente una reducción en la ganancia de peso de hecho se considera que los animales del laboratorio alimentados ad libitum están sobrealimentados.

La RDE reduce la carcinogénesis mamaria tanto en la fase de iniciación como en la de promoción tendiendo un mayor impacto cuando se aplica continuamente, es decir antes y después de aplicar el carcinógeno (27, 30). El hecho de que la RDE actúa a nivel de la iniciación sugiere que hay efectos a nivel de reparación del DNA o cambios en el metabolismo del carcinógeno (27). En cuanto a la promoción tumoral se ha mostrado que la RDE reduce la proliferación de las células epiteliales premalignas y malignas además de que aumenta la apoptosis (33). Se ha reportado una reducción en la expresión de las proteínas anti apoptóticas Bcl-2 y Bcl-XL y un aumento de las pro-apoptóticas Bax y Apaf-1 (27). El Efecto antitumoral de la RDE parece estar mediado al menos en parte por cambios en el sistema endocrino, donde hay un aumento en los corticosteroides y una disminución en los niveles circulantes de insulina y del factor de crecimiento similar a la insulina del tipo 1 (IGF-1) (27, 30). El estudio del efecto antitumoral de la RDE puede generar nuevas estrategias de prevención basadas en los efectos fisiológicos que produce.

Soya y fitoestrógenos

Se ha sugerido que el consumo de soya es uno de los principales factores que contribuyen en la baja incidencia de cáncer mamario observada en los países asiáticos (34). Las poblaciones asiáticas consumen diariamente entre 10-50g de soya, mientras que en Estados Unidos el consumo es solo de 1 a 3 g (8). La soya es una leguminosa con un alto contenido de fitoestrógenos los cuales han recibido mucha atención como posibles protectores de cáncer mamario. Los fitoestrógenos son en su mayoría compuestos difenólicos con estructuras similares a los estrógenos y antiestrógenos naturales y sintéticos (Figura 1) (35,36). Se ha hecho una lista de al menos 300 plantas con componentes activos capaces inducir el estro en animales de laboratorio (36). Estos compuestos se clasifican en dos clases principales: los isoflavonoides y los lignanos (35). Los isoflavonoides se dividen en isoflavonas y coumenstanos, los cuales tienen actividad estrogénica intrínseca. Contrariamente, los lignanos adquieren su actividad estrogénica al metabolizarlos en el tracto gastrointestinal por

acción de la microflora. De este modo los principales lignanos dietarios; el secoisolariciresinol y el matairesinol, son los precursores de los lignanos activos el enterodiol y la enterolactona (36). Las principales fuentes dietarias de isoflavonas son la soya y sus derivados; de los coumenstanos, la alfalfa y de lignanos son las semillas oleaginosas como la linaza. La soya y sus derivados son la principal fuente de las isoflavonas genisteína y daidzeína, las cuales presentan la mayor actividad estrogénica de todos los fitoestrógenos. La genisteína y la daidzeína son capaces de unirse a los dos tipos de receptores a estrógenos (ER), el α y el β . La genisteína tiene una afinidad relativa de unión del 5% al ER α y de un 36% para el ER β con respecto al 17 β -estradiol (35). Con el uso de sistemas in vitro se ha descrito que los fitoestrógenos tienen actividad antiestrogénica cuando se dan en altas concentraciones (35,36). Además de su actividad estrogénica y antiestrogénica se ha reportado que los fitoestrógenos tienen otros efectos biológicos. La genisteína inhibe a la enzima topoisomerasa II, una enzima nuclear indispensable implicada en la replicación del DNA. También se ha descrito que la genisteína inhibe la actividad de las proteínas tirosinacinasas (PTKs) en líneas celulares cancerosas. Las PTKs catalizan la fosforilación de sus propios residuos de tirosina y de algunas otras proteínas implicadas en la trasducción de señales mitogénicas (35,36). Por otra parte se ha reportado que las isoflavonas de la soya tienen actividad antioxidante (37). La genisteína y la daidzeína inhiben la producción de H₂O₂ en la células humanas de promieloblasto HL-60 activadas con 12-O-tetradecanilforbol-13-acetato, siendo la genisteína la más potente, (IC₅₀ = 25 μ M versus IC₅₀ = 150 μ M.). Así mismo, la genisteína y la daidzeína inhiben la producción del anión súperoxido a través de la inhibición de la actividad de la xantina/xantina oxidasa. La genisteína también aumenta la actividad de las enzimas catalasa, súperoxido dismutasa, glutatión peroxidasa y glutatión reductasa de un 10% a un 30% en la piel y en el intestino delgado (37).

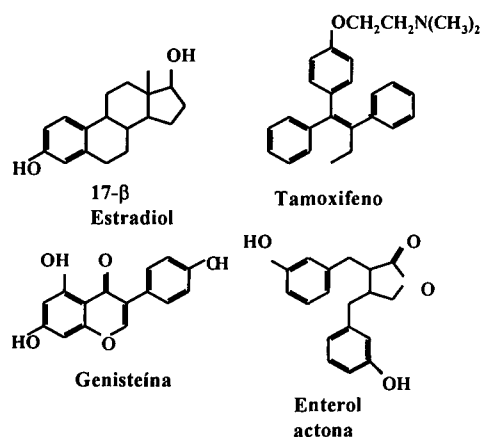
Por otra parte, estudios epidemiológicos han mostrado que el factor reproductivo con mayor efecto anticancerígeno es el embarazo antes de los 20 años. Este efecto es universal y reduce hasta en un 50% el riesgo de padecer cáncer mamario (4,38). Estudios en modelos animales utilizando MNU y DMBA han confirmado este efecto protector del embarazo (38,39). Utilizando estos mismos modelos animales se ha mostrado que mimetizando las concentraciones circulantes de estrógenos y progestagenos presentes durante la gestación producen el efecto protector del embarazo contra el cáncer mamario en animales vírgenes (40-42). Se han propuesto dos hipótesis que explican por que el embarazo protege contra el cáncer mamario. La primera sugiere que durante el embarazo ocurre una diferenciación del tejido epitelial mamario aumentando las estructuras lobulares que a la postre formaran el

tejido secretor de la leche, reduciendo el número de células indiferenciadas de los pies terminales susceptibles a los carcinógenos (38). La otra hipótesis plantea que las concentraciones elevadas y constantes de estrógenos y progesterona presentes durante el embarazo provocan cambios permanentes tanto en la sensibilidad como en la secreción hipofisiaria de hormonas mamotrópicas como la hormona de crecimiento y la prolactina. Estos cambios modifican el ambiente endocrino de las células mamarias confiriéndoles una menor susceptibilidad a los procesos cancerosos (43, 44). De hecho, se ha mostrado que la glándula mamaria después de la gestación y lactancia presenta un patrón de expresión génica diferente al de ratas vírgenes de la misma edad (45). De este modo se ha postulado que el consumo crónico de fitoestrógenos pudiera ofrecer el mismo efecto protector contra el cáncer que tiene el embarazo (34). Estudios experimentales avalan esta proposición, Lamartiniere et al. (46) mostraron que la administración continua de dosis farmacológicas de genisteína subcutánea (5 mg) en ratas hembras neonatas tenía un efecto protector contra la inducción química de cáncer por DMBA. La genisteína aumentó la latencia de aparición de tumores y además redujo tanto la incidencia como el número de tumores por rata. El análisis histológico de la glándula mamaria mostró una reducción significativa en el número de pies terminales y un aumento en el número de estructuras alveolares similar a lo observado en el embarazo. Aunado a lo anterior, los animales tratados con genisteína presentaron alteraciones en el desarrollo del aparato reproductor como fueron una apertura temprana de la vagina, menor tamaño de ovarios y útero así como alteraciones en el ciclo estral. Tratamientos con mayor cantidad de genisteína subcutánea (500 mg/kg peso corporal) aplicada los días 16, 18 y 20 del posparto mantuvieron la efectividad contra la inducción de cáncer y no provocaron los efectos deletéreos sobre el aparato reproductor (47, 48). Posteriormente, Fritz et al. (49) administraron en la dieta de ratas hembras 0, 0.0025% ó 0.025% de genisteína 2 semanas antes de ser apareadas y hasta 21 días después del parto de tal forma que las crías estuvieran expuestas a la genisteína durante la gestación y lactancia. A los 50 días de edad a las crías hembra se les administró el DMBA. Los resultados mostraron un efecto dosis dependiente de la genisteína sobre la carcinogénesis mamaria de tal forma que la dosis de 0.025% redujo un 50% el número de tumores por rata con respecto al control mientras que la dosis de 0.0025% la redujo en un 20%. Posteriormente se probó si solo la administración prenatal de la genisteína (0.025%) era suficiente para proteger contra la inducción de cáncer mamario por DMBA pero no tuvo ningún efecto (50). Sin embargo la suplementación dietaria de genisteína a las madres durante la etapa perinatal (gestación y lactancia) mantiene el efecto antitumoral sin provocar alteraciones en el ciclo estral y en el desarrollo del aparato reproductor de las crías tanto en hembras como en machos

(edad de apertura vaginal, edad de descenso testicular, distancia ano-genital, peso de ovarios y útero e histología ovárica) (49,50).

FIGURA 1

Comparación de las estructuras del 17- β -estradiol (estrógeno), el tamoxifeno (antiestrógeno) y los fitoestrógenos genisteína (isoflavona) y enterolactona (lignano)



Por otra parte, también se ha estudiado el segundo fitoestrógeno más abundante de la soya, la daidzeína, la cuál administrada en la dieta de la madre (0.025%) durante la lactancia no tiene ningún efecto sobre la inducción de cáncer mamario con DMBA en las crías hembras y tampoco afecta el desarrollo del aparato reproductor de las crías independientemente de su sexo (51).

Otra fuente de fitoestrógenos que se ha probado en los modelos animales de inducción química de cáncer mamario, es la linaza. Dietas con un 10% de linaza o de la cantidad equivalente de su fitoestrógeno principal el coumestano secoisolariciresinol diglucósido, inhiben la incidencia tumoral hasta en un 31.3% y 42% respectivamente y el número de tumores se inhibe en alrededor de un 45% por ambos tratamientos. La linaza y el secoisolariciresinol diglucósido en la dieta no provocan daños en el desarrollo de los órganos sexuales de las crías cuando se administran durante la lactancia pero si lo hacen cuando se administran en la etapa prenatal (52, 53).

En términos generales este conjunto de estudios demuestra que la magnitud de los efectos de los fitoestrógenos sobre el desarrollo de la cáncer mamario y de otras estructuras como son el aparato reproductor dependen del compuesto utilizado, de la etapa del desarrollo en la cual se aplica y la vía de administración utilizada.

Los mecanismos por los cuales actúan los fitoestrógenos parecen ser mediados en su mayor parte por su efecto

estrogénico (50,54,55). Cuando se aplican en la etapa perinatal inducen una diferenciación más temprana del epitelio mamario. Aumentan precozmente (21 día postnatal) la proliferación de las células epiteliales de los pies terminales, y posteriormente (50 día postnatal) inducen la diferenciación de los complejos lóbulo alveolares (50,54,55). Estos cambios morfológicos correlacionan además con cambios funcionales. Se ha observado un aumento en la expresión de la β -caseína, principal proteína de la leche, e incrementos en la expresión del receptor del factor de crecimiento epidermal (EGF) (50,54,55). El EGF y su receptor son dos factores que juegan papeles muy importantes en la fisiopatología del cáncer mamario. El EGF estimula el crecimiento de las células tumorales y su receptor ya sea por mutaciones o por sobreexpresión puede aumentar la transducción de señales mitogénicas aún en ausencia de su ligando (56).

Una preocupación constante acerca del efecto estrogénico de los fitoestrógenos es si este tipo de compuestos es capaz de estimular el crecimiento de los tumores mamarios dependientes de estrógenos en las mujeres. Estudios utilizando modelos de trasplante de líneas celulares de cáncer de mama dependiente de estrógenos (MCF-7) en ratones inmunosuprimidos y ovariectomizados mostraron que dietas enriquecidas con genisteína, y aislados de proteínas de soya con genisteína estimulaban el crecimiento tumoral (57). Sin embargo utilizando este mismo modelo animal pero con animales sin ovariectomizar se mostró que la genisteína inhibía el crecimiento de los tumores (57,58). Más aún se ha mostrado, utilizando el modelo de DMBA en ratas, que los animales alimentados con genisteína (0.025%) durante su etapa prenatal así como después de que se les aplicó el cancerígeno desarrollan un menor número de tumores con respecto a los que solo recibieron la genisteína en su etapa prenatal (50). Adicionalmente, estudios *in vitro* han mostrado que en las células mamaria MCF-7 la genisteína estimula la proliferación celular y la expresión del gen responsivo a estrógenos *pS2* cuando se utiliza medio de cultivo libre de estrógenos (57). Sin embargo cuando se utilizan medios de cultivo con estrógenos la genisteína tiene un efecto opuesto (57,58). Más aún se establecido que los fitoestrógenos ejercen un efecto bifásico sobre el crecimiento celular de las células tumorales, estimulando el crecimiento cuando se utilizan concentraciones menores de 5 μ M e inhiben el crecimiento a concentraciones elevadas (8, 58). Una explicación a estos resultados aparentemente contradictorios podría darse a partir de un estudio más detallado de las interacciones entre los dos tipos de receptores a estrógenos, el ER α y el ER β . Mientras que El 17 β - estradiol se une con afinidad similar a sus dos receptores, los isoflavonas de la soya se unen con mayor afinidad al receptor ER β (8). Los estudios de unión muestran que la genisteína, la daizeína y la biocanina A tienen entre 8 a 16 veces más afinidad por el ER β que por el ER α (8). Estudios *in vitro* utilizando células cancerosas no

responsivas a estrógenos transfectadas con el ER α ? mostraron que la genisteína estimulaba pobremente la transcripción de los genes reporteros. En contraste cuando las células expresaban exclusivamente el ER β la genisteína promovía una mayor transcripción y reclutamiento de proteínas coactivadoras como el factor de iniciación de la traducción del tipo 2 y el coactivador de receptores a esteroides del tipo 1 (SRC-1) (8). Adicionalmente se encontró una mayor actividad transcripcional cuando se cotransfectaron ambos tipos de receptores a estrógenos lo que sugiere que la presencia del ER α puede aumentar la transducción de la señal del ER β a través de la formación de heterodímeros ER α /ER β (8). Estas observaciones implican que los efectos de las isoflavonas de la soya dependen del coeficiente de expresión ER α /ER β . Más aún, dichos efectos también dependerán de las proteínas coactivadoras y corepresoras presentes en cada tejido (8). En base a lo anterior se ha postulado que los modelos para el estudio de los fitoestrógenos que pueden aportar información clínicamente relevante son aquellos en los cuales los animales tengan la presencia de los estrógenos (57).

En resumen, los estudios en animales junto con los estudios epidemiológicos muestran que hay una asociación entre el consumo de soya y sus fitoestrógenos la reducción del riesgo de cáncer mamario aunque persiste la preocupación de que puedan tener efectos de estimulación sobre la proliferación celular de los tumores dependientes de estrógenos.

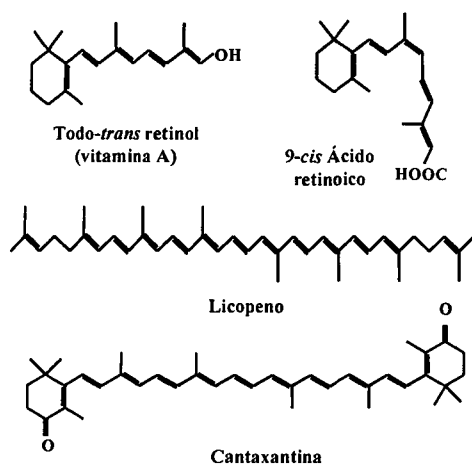
Retinoides y carotenoides

Los retinoides están formados por un anillo β -ionona (ciclohexinilo) conjugado a una cadena de unidades isopreno que tiene un grupo funcional de naturaleza variable (alcohol, aldehído, ácido orgánico) en el carbono 15 de la cadena (Figura 2). Los retinoides fisiológicamente más relevantes en los mamíferos son el retinol (vitamina A), el retinal y el ácido retinoico (AR) (59). El AR es un derivado del retinol con alta actividad biológica el cual participa en múltiples procesos celulares como son el desarrollo, crecimiento y la diferenciación celular (60). El AR ejerce la mayoría de sus efectos fisiológicos a través de sus receptores, los cuales pertenecen a la superfamilia de los receptores nucleares (61). Esta superfamilia de receptores nucleares esta formada por factores de transcripción dependientes de ligando y a la cual también pertenecen los receptores a vitamina D, hormonas tiroideas, hormonas esteroides y receptores activadores de la proliferación de los peroxisomas (PPAR) (61). En lo que respecta a los receptores a AR se han descrito dos subfamilias que son los RAR y los RXR (62). Cada una de estas subfamilias consiste de tres subtipos (α , β y γ). La subfamilia RAR se activa por los isómeros del AR, todo-*trans*, 9-*cis* y 13-*cis*, mientras que la familia RXR se activa exclusivamente por el 9-*cis* (62). Dado que los retinoides participan en el mantenimiento y regulación de la diferenciación celular, y

que el cáncer es un proceso en el que ocurre la pérdida de la diferenciación, los retinoides han sido considerados como potenciales agentes preventivos del cáncer (63).

FIGURA 2

Estructura de los retinoides todo-*trans* retinol y 9-*cis* ácido retinoico y los carotenoides, licopeno y cantaxantina)



El efecto antitumoral del AR en sus diferentes isómeros así como una gran diversidad de retinoides sintéticos ha sido objeto de diversos estudios tanto *in vivo* como *in vitro* en diferentes tipos de neoplasias (64). El AR inhibe la señalización del factor de transcripción AP-1, el cual está compuesto de heterodímeros de las proto-oncoproteínas Jun y Fos o de homodímeros de Jun (65). Estos complejos son activados en las células mamarias por factores que estimulan el crecimiento celular como son los estrógenos, el EGF, el factor de crecimiento transformante α (TGF α) y los factores de crecimiento similares a la insulina (IGFs), transduciendo señales mitogénicas en éstas células. El AR también induce la expresión de inhibidores del crecimiento como el TGF β y la proteína que une al factor de crecimiento similar a la insulina del tipo 3 (IGFBP-3) y el propio receptor β del AR (RAR β) (60). Por otra parte se ha demostrado en estudios *in vitro* que el todo-*trans* AR induce apoptosis mediada al menos en parte por regular a la baja a la proteína anti-apoptótica Bcl2. El todo-*trans* AR induce la expresión de las citoqueratinas 8 y 18, marcadores de la diferenciación epitelial ductal, en las células de cáncer mamario humano T47D (60).

La mayoría de los estudios anteriores se han realizado *in vitro*, ya que la administración elevada y crónica del AR *in vivo* se acompaña de una elevada toxicidad. En su lugar han sido estudiados retinoides sintéticos menos tóxicos, destacándose la todo-*trans* N-(4-hidroxifenil) retinamida (4HPR; fenretinida) la cual es altamente efectiva para prevenir la carcinogénesis mamaria inducida tanto con MNU como con

DMBA (63,66). La 4HPR se acumula principalmente en la glándula mamaria y sus mecanismos de acción no han sido dilucidados totalmente. Estudios *in vitro* muestran que la 4HPR tiene poca afinidad por la subfamilia RAR y activa mínimamente los elementos de respuesta a RAR y RXR (63, 66). Lo anterior pone de manifiesto que parte de los mecanismos de acción de la 4HPR son diferentes de los retinoides naturales. La 4HPR es uno de los compuestos que al igual que el tamoxifeno ya se usan en la práctica clínica con relativo éxito y que previamente fueron probados con los modelos animales (19). En la actualidad existen más de 1000 retinoides sintéticos que están a la espera de la evaluación de su potencial papel preventivo en el cáncer mamario. En lo que respecta a los retinoides naturales, se ha documentado que mientras el todo-*trans* AR no tiene ningún efecto sobre la carcinogénesis mamaria inducida con MNU el 9-*cis* AR reduce de manera significativa la incidencia, el número de tumores por ratas y el tamaño del tumor (67). Paradójicamente se ha descrito en estudios *in vitro* que ambos isómeros tienen los mismos efectos biológicos, incluso en algunos casos suele ser más potente el todo-*trans* AR, indicando posibles e importantes diferencias farmacocinéticas entre ambos compuestos (67, 68). Anzano et al. (67) también mostraron que tanto el 9-*cis* AR como el todo-*trans* AR tienen un efecto sinérgico con el tamoxifeno reduciendo el tamaño y número de tumores por rata.

Los carotenoides, compuestos de naturaleza isoprenoide, también han sido estudiados como potenciales agentes preventivos de cáncer mamario. El β -caroteno, carotenoide con actividad de pro-vitamina A, no tiene ningún efecto sobre la carcinogénesis mamaria en modelos animales (63). Por su parte los carotenoides sin actividad de pro-vitamina A, la cantaxantina y el licopeno (Figura 2) si tienen algunos efectos sobre la carcinogénesis mamaria (63, 69). La cantaxantina administrada en la dieta (0.34% y 0.11%) 3 semanas antes de aplicar el DMBA redujo en un 65% el número de tumores mamarios mientras que cuando se administró después de aplicar MNU no tuvo ningún efecto sobre la carcinogénesis (70). Esto sugiere fuertemente que la cantaxantina actúa a nivel de la iniciación de la carcinogénesis y que lo hace inhibiendo la activación del carcinógeno. En lo que respecta al licopeno se mostró que la aplicación intraperitoneal (10 mg/kg de peso) dos veces a la semana 2 semanas antes de aplicar el DMBA redujo el número de tumores por rata, pero no tuvo ningún efecto sobre la incidencia, latencia o volumen de los tumores. Contrariamente, utilizando el modelo de MNU no se encontró ningún efecto sobre la carcinogénesis cuando el licopeno se administró en la dieta en forma pura o de oleoresina (71). Resulta importante detectar que las diferentes formas y vías de administración de los compuestos con potencial preventivo así como el tipo de carcinógeno utilizado permiten explicar los aparentes resultados contradictorios. También se debe

remarcar que el estudio de los carotenoides como factores preventivos de cáncer mamario ha sido muy escaso y todavía no se puede concluir sobre su valor en esta materia.

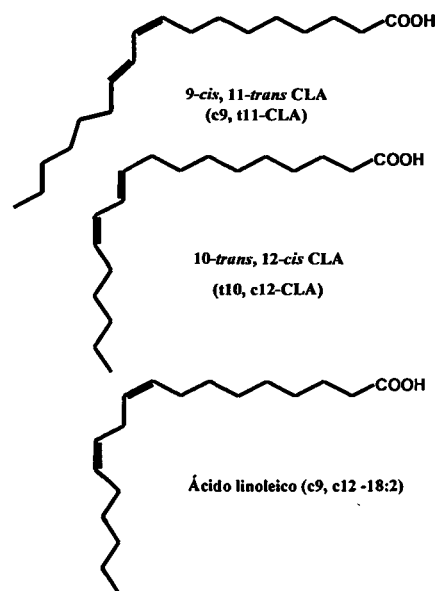
Acido graso linoleico conjugado

El término ácido linoleico conjugado (CLA) agrupa a una serie de ácidos grasos polinsaturados que son isómeros de posición y configuración geométrica del ácido linoleico (Todos *cis* 9-12 octadecadienoico; c9, c12-18:2) con dobles enlaces conjugados (Figura 3) (72). Los dobles enlaces del CLA se pueden localizar en las siguientes las posiciones 7, 9; 8, 10; 9, 11; 10, 12 ó 11, 13 y además puede haber combinaciones de las configuraciones geométricas, *cis* y *trans*. El isomero del CLA más abundante es el c9t11-CLA también llamado ácido ruménico. El CLA se encuentra en los derivados cárnicos de res y cordero así como en los productos lácteos derivados de estas especies de rumiantes. Adicionalmente a estas fuentes dietarias el CLA puede ser sintetizado a partir del ácido vaccénico (t11-18:1) por acción de la enzima $\Delta 9$ -desaturasa que se encuentra abundantemente en la glándula mamaria y el tejido adiposo (73). Experimentalmente se ha descrito que el CLA tiene una serie de efectos biológicos entre los que destacan el efecto antidiabético, el antiaterosclerótico, el antiadipogénico y el anticarcinogénico (72). En la mayoría de los estudios con CLA se ha utilizado una mezcla de isómeros sintetizados químicamente a partir de una reacción alcalina que utiliza como sustrato al ácido linoleico (72, 73). Los productos de dicha síntesis química son c9,t11-CLA (~42%), t10,c12-CLA (~43%), otros isómeros del CLA (c9,c11-CLA, c10,t12-CLA, t9, t11/t10, t12-CLA, c7,c9-CLA, c8,c10-CLA, c11,c13-CLA) (~5%), ácido linoleico (~0.5%), ácido oleico (~4.0%) y otros ácidos grasos no determinados (~5.5%) (72, 73). Existen muy pocos trabajos en los que se hayan utilizados isómeros purificados del CLA esto a tenido como consecuencia que los efectos biológicos observados con la mezcla de CLA se atribuyan principalmente al c9,t11-CLA y al t10,c12-CLA (72, 73). En los trabajos que a continuación revisamos, a menos que se indique lo contrario, se utiliza la mezcla de isómeros de CLA que mencionamos anteriormente.

En modelos animales de carcinogénesis química se ha visto que el CLA inhibe la formación de papilomas de piel, cáncer de estomago, cáncer de colón y tumores mamaros (74-79). Ip et al. (77) mostraron que el CLA inhibió el desarrollo tumores mamaros inducidos con DMBA. Las ratas fueron alimentadas con la dieta basal AIN-76A o adicionada con 0.5%, 1% ó 1.5% de CLA. Los tratamientos se iniciaron 2 semanas antes de aplicar el cancerígeno y continuaron hasta el final del experimento. El número total de adenocarcinomas mamaros por rata en los grupos adicionados con CLA al 0.5%, 1%, y 1.5% CLA se redujeron en un 32%, 56%, y 60%, respectivamente. De igual manera la incidencia y el tamaño del tumor se redujeron en los animales tratados con el CLA. En general se

encontró un efecto dosis-dependiente desde 0 hasta 1% de adición del CLA, y sin beneficios adicionales por el uso de 1.5% de CLA. El consumo crónico de CLA al 1.5% no produjo consecuencias adversas en los animales. Posteriormente se mostró que el efecto anticancerígeno del CLA se daba tanto en animales tratados con DMBA como con MNU lo que sugiere que el CLA no actúa en la activación del cancerígeno (78).

FIGURA 3
Comparación de los isómeros más estudiados del ácido linoleico conjugado (CLA) y el ácido linoleico



Estudios subsecuentes mostraron que el efecto del CLA era independiente de la forma de administración ya fuera en forma de ácidos grasos libres o como triglicéridos (80). También se ha determinado que ni la cantidad (10%, 13.3%, 16.7% ó 20%) ni el tipo de lípidos (mantequilla ó aceite de maíz) presentes en la dieta influyen sobre el efecto anticancerígeno del CLA (81). Igualmente se demostró que la administración de una dieta rica en CLA (1%) iniciada después del destete (21 días posparto) y hasta los 42 días de edad es suficiente para inhibir la carcinogénesis mamaria cuando el cancerígeno se aplica al día 50 de edad. En contraste, si la dieta rica en CLA se inicia posterior a la aplicación del cancerígeno su administración debe ser continua para mantener la inhibición de la carcinogénesis (80). Más recientemente, Ip et al. (82) encontraron que la adición a la dieta de una mantequilla enriquecida con el c9,t11-CLA y el ácido vaccénico (precursor del c9,t11-CLA) inhibía efectivamente la carcinogénesis mamaria. La concentración de CLA en la mantequilla enriquecida con CLA fue de 8.2 veces más en la control y la concentración total de CLA en la dieta fue de 0.8%. Es importante señalar

que la elaboración de esta mantequilla rica en CLA no consistió de la adición de CLA sintetizado químicamente sino que partió desde la alimentación que se dio a las vacas para producir una leche rica en CLA. Esto muestra que es posible enriquecer la leche y sus derivados con el CLA y hace más probable su utilización en forma de "alimento funcional". Recientemente se ha encontrado que el ácido vaccénico, presente en la leche, también inhibe la carcinogénesis mamaria (83). El efecto anticancerígeno del ácido vaccénico parece depender de su transformación a c9, t11-CLA vía la Δ^9 -desaturasa (84, 85).

A lo largo de más de una década de investigación sobre el papel del CLA en la carcinogénesis mamaria con modelos animales se han demostrado que este compuesto tiene efectos biológicos tanto en el epitelio como en el estroma mamarios. Estudios tanto *in vivo* como *in vitro* han mostrado que el CLA inhibe la proliferación y aumenta la apoptosis en el epitelio mamario (79,82,86,87). En lo referente al efecto sobre la proliferación celular los estudios *in vivo* muestran que el CLA inhibe la densidad del epitelio mamario en un 20% a un 30%, acompañado de una reducción en el número de pies terminales, así como una reducción de la proliferación celular en estas estructuras asociado a una reducción de la expresión de las ciclinas D1 y A (73, 82, 88). Ambas ciclinas participan en la promoción de la fase G1 a la fase S del ciclo celular. Estudios *in vitro* con cultivos primarios confirman que el CLA inhibe directamente la proliferación celular del epitelio mamario (79). De este modo se ha postulado que se reduce el número de las células más susceptibles a los cancerígenos (73,82). Por otra parte se ha mostrado que los animales alimentados con CLA hay un aumento en la apoptosis en las lesiones preneoplásicas generadas por los cancerígenos. La apoptosis observada en estos estudios se acompaña de una reducción de la proteína anti-apoptótica Bcl-2 pero sin cambios en las proteínas pro-apoptóticas Bak y Bax (86). El efecto proapoptótico del CLA se ha observado tanto en cultivos primarios de epitelio normal como en la líneas celulares de cáncer mamario de rata inducido con MNU (79, 86).

En la glándula mamaria además del componente epitelial existe el componente estromal que forma el cojinete graso que es donde el epitelio se desarrolla, alimenta y funciona. El estroma esta compuesto principalmente por vasos sanguíneos, fibroblastos, adipocitos y abundante matriz extracelular. Existe una muy estrecha y poco estudiada comunicación celular entre el estroma y epitelio mamarios. El CLA se almacena de manera dosis dependiente en los adipocitos principalmente en forma de lípidos neutros y otro tanto en forma de fosfolípidos. La acumulación del CLA es mayor en la glándula mamaria que en el hígado o suero pero menor que en el tejido adiposo peritoneal (82, 87). Todo esto sugiere que los triglicéridos en los adipocitos mamarios pudieran representar un reservorio de CLA el cual sería transportado al epitelio

adyacente. El CLA inhibe el metabolismo del ácido linoleico hacia ácido araquidónico en un 50%, sugiriendo que uno de los mecanismos por los cuales el CLA ejerce sus efectos es a través de una alteración de la síntesis de los eicosanoides (87). También se ha demostrado que el CLA inhibe la angiogénesis en el modelo *in vivo* de ratón con reto angiogénico (89). Este modelo de angiogénesis consiste en aplicar en la glándula mamaria una inyección subcutánea de un substrato angiogénico (células de sarcoma de Engelbreth-Holm-Swarm en un gel junto con el factor de crecimiento básico de los fibroblastos). De este modo los ratones alimentados con una dieta con 1% o 2% de CLA por 6 semanas previos al reto angiogénico presentaron una menor vascularización (89). Esto se acompaña de una menor presencia del factor de crecimiento vascular endotelial (VGEF) así como de su receptor la cinasa hepática fetal tipo 1 (FLK-1) y también una menor concentración en suero del VGEF (89). Existe todavía muy pocos estudios donde se distingan claramente los efectos individuales de cada uno de los isómeros del CLA.

Adicionalmente a estos efectos se ha demostrado que el CLA tiene un modesto efecto antioxidante reduciendo la lipoperoxidación tanto en la glándula mamaria normal como en la de los animales tratados con DMBA (77).

En cuanto a los mecanismos de acción del CLA no han sido firmemente establecidos (73). Se ha sugerido que los efectos del CLA podrían estar mediados en parte por un mecanismo dependiente de la activación de los PPAR (90). Los PPAR al igual que los receptores al AR son receptores que pertenecen a la superfamilia de receptores nucleares. Los PPAR forman heterodímeros con los RXR y regulan la expresión de genes involucrados en el metabolismo de lípidos, señalización de la insulina, diferenciación adiposa y apoptosis (59, 91). En la actualidad se han descrito tres tipos de PPAR que son el α , β (también denominado δ) y γ , los cuales se expresan en la glándula mamaria y pueden ser activados por el CLA (73,90-93). En particular, el PPAR γ es el que llama más la atención debido a que este tipo de receptor se encuentra poco expresado en los tumores mamarios y a que su expresión es inducida por el propio CLA (90, 91, 93). Más aún, evidencia indirecta señala que metabolitos Δ^6 -desaturados del CLA activan al PPAR γ (93). También se ha observado que activadores específicos del PPAR γ como la tiazolidinediona inhiben el crecimiento de células cancerosas de mama, colon y próstata (91). Además, se ha demostrado en modelos murinos que la tiazolidinediona y el GW7845, otro ligando del PPAR γ , tienen un efecto protector contra el desarrollo de cáncer mamario (91, 94).

Probablemente uno de los mayores retos que tiene en frente el estudio de los efectos antineoplásicos del CLA sea el de distinguir los efectos de cada uno de los isómeros que se han utilizado en los diferentes bioensayos. Por ejemplo, se ha observado que tanto el c9,t11-CLA, el isómero más abundante

en la grasa de la leche, y el t10,c12-CLA, un isomero menos abundante, inhiben la angiogénesis en el modelo *in vivo* de ratón con reto angiogénico, pero tienen un claro efecto diferencial en el tejido adiposo blanco y café presente en la glándula mamaria. Ambos isómeros reducen el tamaño de los adipositos blancos pero solo el t10,c12-CLA induce apoptosis tanto en el tejido adiposo blanco como en el café (95). En contraste, el c9,t11-CLA presenta mayor afinidad que el t10,c12-CLA a los PPAR α y γ (92, 93), poniendo en evidencia la posibilidad de mecanismos acción diferentes a los propuestos actualmente. Otro aspecto importante que tendrá que sortear la investigación en CLA es el estudio en poblaciones humanas mostrando su valor como agente preventivo de cáncer mamario seguro y eficaz. Por el momento, los estudios epidemiológicos no han encontrado una asociación de reducción del riesgo de cáncer mamario con consumo del CLA (96). Esto se puede deber en parte a la cantidad de CLA que se consume de manera habitual en la dieta, se estima que el consumo de CLA es de ~150-200 mg/día mientras que el consumo de CLA en los animales de experimentación es de 12 mg/día, lo que equivaldría a un consumo de 2.8 g/día en un individuo de 70 kg (96). Esto presupone una limitante del CLA como agente preventivo del cáncer mamario pero dado su potencial como agente coadyuvante de varias patologías humanas se están buscando alternativas para enriquecer la dieta con este tipo de ácidos grasos y también generar con menor costo los diferentes isómeros de CLA.

Algas marinas y yodo

El consumo de las algas marinas *wakame* (*Undaria*), *nori* (*Porphyra*) y *kombu* (*Laminaria*) ha sido señalado como otro de los componentes clave de la dieta oriental que pudiera brindar la protección contra el riesgo de desarrollar cáncer mamario (9,97). Experimentalmente se ha mostrado que tratamientos a base de algas inhiben la carcinogénesis mamaria inducida químicamente. Teas et al. (97), mostraron que la adición a la dieta de un 5% del alga *Laminaria angustata* retrasa significativamente la aparición de tumores en ratas tratadas con el cancerígeno DMBA. Yamamoto et al. (98), encontraron que la adición de un 2% a la dieta de las algas *Porphyra tenera*, *Laminaria religiosa* y *Laminaria japonica var ochotensis* inhibían la incidencia de tumores mamarios inducidos con DMBA. El grupo control tuvo una incidencia tumoral del 69% mientras que las ratas tratadas con los diferentes tipos de algas tuvieron incidencias del 35% para la *P. tenera*, 35% para la *L. religiosa* y de 50% para *L. japonica var ochotensis*. Más recientemente Funahashi et al. (99) reportaron que la adición de 1 y 5% del alga *wakame* en la dieta de ratas con tumores mamario inducidos con DMBA presentaban una reducción del tamaño tumoral. El consumo de la dieta adicionada con el alga aumento significativamente los valores de yodo en el suero pero no modifico los valores de la

hormona tiroidea tiroxina (T4). Adicionalmente se mostró que en los tumores mamarios de las ratas suplementadas con el alga se redujo la proliferación y aumento la muerte celular. También se encontró un aumento en la expresión de TGF- β en las ratas tratadas con el alga marina. Se ha demostrado que el TGF- β induce apoptosis en células tumorales y que actúa paracrinamente en las células endoteliales inhibiendo la angiogénesis. Posteriormente en la misma línea de investigación, Funahashi et al. (100), con el argumento de que las dosis utilizadas del alga *wakame* fueron muy altas, probaron extractos del alga marina *mekabu*. El alga marina *mekabu* al igual que la *wakame* también es rica en yodo (5.7 vs 5.9 mg/100 g) pero tiene la ventaja de ser más barata y de más fácil procesamiento. Una semana después de que aplicaron el DMBA se administro como bebida una solución a base de los extractos del alga *mekabu* durante 32 semanas. Los resultados obtenidos mostraron que el alga *mekabu* inhibía la incidencia tumoral en un 80%. Así mismo se observó un aumento en el tiempo de aparición de los tumores en las ratas tratadas con el alga *mekabu* (24-32 semanas post-DMBA) con respecto al grupo control (5-12 semanas post-DMBA). El número de tumores por rata y el tamaño de los tumores también se redujo significativamente. En el mismo trabajo Funahashi et al. (100) con experimentos *in vitro* mostraron que el tratamiento a base del alga *mekabu* indujo apoptosis en las líneas celulares de cáncer mamario MCF-7, MDA-MB-231 y T-47D de manera más efectiva que el medicamento antineoplásico 5-fluorouracil.

Se han señalado varios componentes de las algas que pudieran estar mediando su efecto anticancerígeno como son el ester sulfato, el polisacárido sulfatado fucoidan y el yodo (9, 97, 98). De estos el que más se ha estudiado en cáncer mamario es el yodo. Se estima que gracias al consumo de algas el consumo de yodo en Japón alcanza los 5000 $\mu\text{g}/\text{día}$ mientras que en Estados Unidos y Reino Unido es solo de 200 $\mu\text{g}/\text{día}$ (9). Desde hace más de 30 años se ha sospechado que el yodo participa en la fisiología y patología mamaria (101). Eskin et al. (102) mostró que la deficiencia de yodo en ratas hembras producía lesiones atípicas y displásicas en la glándula mamaria. Posteriormente, Eskin et al. (103) demostró que la hiperplasia mamaria por deficiencia de yodo se reducía con la suplementación de yodo molecular (I_2) pero no se modificaba al utilizar yoduro (I^-). Posteriormente, Funahashi et al. (104) mostraron que la administración continua por 4 semanas de solución de Lugol (solución a base de KI y I_2) con acetato de medroxiprogesterona inhibía el crecimiento de tumores mamarios inducidos con el cancerígeno DMBA. Este efecto de inhibición del crecimiento tumoral mamario permaneció hasta 4 semanas después de retirar los tratamientos de solución de Lugol y acetato de medroxiprogesterona. Cabe señalar que el contenido de yodo en los tumores tuvo un incremento significativo después de 4 semanas de aplicar los

tratamientos. En resultados obtenidos en nuestro laboratorio utilizando el modelo de carcinogénesis mamaria con MNU se observó que cuando se administraban crónicamente (hasta 4 meses post-MNU) en el agua de bebida I_2 (0.05%), KI (0.05%) y T4 ($3\mu\text{g}/\text{mL}$) solo el tratamiento de I_2 inhibió el desarrollo de tumores mamaros. El KI no redujo la incidencia tumoral con respecto al control, 93.7% vs 72.7% respectivamente, y tampoco retrasó la semana de aparición del primer tumor con respecto al control, 10.8 semanas vs 9.8 semanas. Por su parte el I_2 redujo significativamente la incidencia tumoral (al 30%) y se observó una tendencia a aumentar la latencia de aparición del primer tumor (10.8 vs 12.7 semanas). Más aún, solo el tratamiento con T4 pero no con I_2 y KI modificó los niveles circulantes de la hormona tiroidea, triiodotironina (T3). Estos datos indican que el efecto antitumoral del I_2 no es mediado por su conversión a I^- o por su incorporación a las hormonas tiroideas. Además se encontró que si el tratamiento de I_2 se suspende tanto una semana después de aplicado el MNU o después de 4 meses, la incidencia tumoral aumenta significativamente sugiriendo que el efecto protector del I_2 incide en la promoción tumoral (105).

Los mecanismos por los cuales el yodo es capaz de inhibir la carcinogénesis mamaria están aún por dilucidarse. Venturi et al., (106) y Symth (107) proponen que el yodo, en todas las células que son capaces de concentrarlo, tiene una acción antioxidante. El I^- en presencia de H_2O_2 y peroxidasa se oxida y se pueden yodar residuos de tirosina, histidina o lípidos específicos y como consecuencia neutralizar su propio poder oxidante. Además se conoce que el KI es un quelante específico del OH^- (108). Estudios *in vitro* muestran que el NaI (15 μM) es tan efectivo como el ácido ascórbico (50 μM) para prevenir el efecto oxidativo del H_2O_2 a las muestras de suero de sujetos humanos (109). Esto sugiere que el I^- puede estar actuando directamente neutralizando al OH^- o indirectamente compitiendo con los radicales libres por los sitios susceptibles de oxidación de moléculas como lípidos, proteínas o DNA. A este respecto se ha demostrado que se conoce que la deficiencia de yodo aumenta la lipoperoxidación en tiroides (107). Más aún, Katamine et al. (110) encontró que ratas con un consumo crónico (19 meses) de una dieta rica en yodo tienen una disminución en la lipoperoxidación basal en el cerebro. Estudios en nuestro laboratorio muestran que los tratamientos con I_2 en el agua de bebida de ratas tratadas con y sin MNU se acompañan de una reducción en la lipoperoxidación en la glándula mamaria (105).

Otro de los efectos que pudiera estar provocando el yodo en la glándula mamaria es inhibir la proliferación celular e inducir apoptosis. La glándula tiroidea con bocio (hiperplásica) reduce su tamaño después de la aplicación de KI y el análisis histológico de la glándula muestra la presencia de muerte celular (111). En estudios *in vitro* se ha observado que la administración de KI inhibe la proliferación celular e induce

apoptosis en los tirocitos (112). Más aún, se ha demostrado que el KI induce apoptosis en tirocitos y células cancerosas solo si hay la presencia de la actividad de la enzima tiroperoxidasa (TPO) (94,95). Vitale et al. (113) mostró en tirocitos que el exceso de KI induce apoptosis pero si TPO es inhibida con propiltiouracilo su efecto se cancela. Zhang et al., (114) usando células cancerosas de pulmón transfectadas con el transportador de Na^+/I^- (NIS) o con NIS+TPO juntos, la inducción de apoptosis con KI solo se presenta en las células transfectadas con NIS+TPO. Todo esto indica que el I^- que viene del KI requiere ser oxidado por la TPO para ejercer sus efectos, implicando también que el yodo actúa unido a proteínas y/o a lípidos (112). A la fecha no se ha identificado el intermediario oxidado del yodo que se genera por acción de la TPO pero existen varios candidatos como el yodinio (I^+), el radical libre de yodo (I^0) y el I_2 (107). Las principales componentes que se yodan son la tiroglobulina, proteína indispensable para la formación de las hormonas tiroideas y lípidos derivados del ácido araquidónico (112). Entre los lípidos yodados se encuentra la δ -yodolactona (6-yodo 8, 11, 14-eicosatrienoica- δ -lactona) la cual inhibe la proliferación celular, la captura de yodo y la producción de H_2O_2 en los tirocitos (112). Nosotros proponemos que estos lípidos yodados al tratarse de derivados del ácido araquidónico podrían actuar a través de receptores nucleares tipo PPAR regulando la transcripción de genes (105, 115).

En el caso de nuestros resultados donde encontramos que el I_2 y pero no el KI tiene efectos sobre la carcinogénesis nos sugiere que el I_2 al tratarse de una forma oxidada no requiere de la mediación enzimática para unirse a los lípidos (105, 115). De hecho se ha mostrado síntesis *in vitro* de T4 en ausencia de TPO utilizando como precursor al I_2 (116). Cabe mencionar que solo durante la gestación y lactancia la glándula mamaria expresa una enzima homóloga a TPO, la lactoperoxidasa (LPO), la cual oxida al I^- que viene de la circulación y lo une a las proteínas de la leche (117).

Finalmente, en estudios en mujeres con enfermedad fibrocística mamaria el tratamiento con I_2 en dosis entre 3 y 6 mg administrado por más de 4 meses reduce la nodularidad mamaria y el dolor característicos de esta enfermedad sin tener efectos tóxicos sobre la función tiroidea y (118,119). Estos datos junto con los reportes en animales de laboratorio colocan al I_2 como un candidato viable para ser utilizado en estudios clínicos de terapia contra el cáncer mamario.

CONCLUSIONES

Como se ha podido observar los modelos animales son necesarios para la búsqueda de nuevas modalidades de terapia y prevención de cáncer mamario. Su uso representa varias ventajas para el estudio del cáncer mamario entre las que podemos destacar las siguientes: a) permite la evaluación inte-

gral de los efectos sobre el metabolismo, la defensa del huésped y el sistema endocrino de los nuevos esquemas terapéuticos y de prevención; b) dan la oportunidad de examinar relaciones causa-efecto en un ambiente *in situ* influenciado por todos los otros factores presentes en el sistema; c) reduce la variabilidad genética presente naturalmente en las poblaciones humanas; d) permiten manipulaciones genéticas y se puede determinar el papel que desempeñan dichas manipulaciones en el curso de la enfermedad; e) se prestan para el diseño de experimentos que semejen los patrones de consumo de componentes de la dieta humana; y finalmente f) son económicos, ahorran tiempo, y son ideales para abordar aquellas interrogantes que por razones éticas no se pueden contestar con la investigación en sujetos humanos.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos la revisión crítica de este manuscrito al Dr. Mauro Valencia y a la Dra. Silvia Moya-Camarena del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (Hermosillo, Sonora México). También agradecemos a los servicios de información y recuperación de documentos de la biblioteca del Instituto de Neurobiología de la UNAM a cargo de la Lic. Pilar Galarza. Así mismo agradecemos los servicios de la Biblioteca Virtual de Biotecnología para las Américas del Instituto de Biotecnología de la UNAM y del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC). Parcialmente apoyado por CONACYT 25598-M y DGAPA-UNAM PAPIIT IN224602. P García-Solís recibe apoyo económico para estudios de posgrado por parte del CONACYT (153808) y de la DGEP-UNAM (500119785).

REFERENCIAS

- Bray F, McCarron P, Parkin DM. The changing global patterns of female breast cancer incidence and mortality. *Breast Cancer Res* 2004; 6: 229-39.
- DeBruin LS, Joseph PD. Perspectives on the chemical etiology of breast cancer. *Environ Health Perspect* 2002; 110 Suppl 1: 119-28.
- Charpenter A, Aldaz M. The molecular basis of breast carcinogenesis. En: Tsongalis GJ, editor. *The molecular basis of human cancer*. Totowa, NJ: Humana Press; 2002. p. 347-363.
- MacMahon P, Cole T, Lin TM, Lowe CR, Mirra AP, Ravnihar B, et al. Age at first birth and breast cancer risk. *Bull Wld Hlth Org* 1970; 43: 209-221.
- Gerber B, Muller H, Reimer T, Krause A, Friese K. Nutrition and lifestyle factors on the risk of developing breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2003; 79: 265-76.
- Ziegler RG, Hoover RN, Pike MC, Hildesheim A, Nomura AM, West DW, et al. Migration patterns and breast cancer risk in Asian-American women. *J Natl Cancer Inst* 1993; 85: 1819-27.
- WCR/AICR. *Food, nutrition and the prevention of cancer: a global perspective*. Washington, DC. World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research; 1997.
- Limer JL, Speirs V. Phyto-oestrogens and breast cancer chemoprevention. *Breast Cancer Res* 2004; 6: 119-27.
- Cann SA, van Netten JP, van Netten C. Hypothesis: iodine, selenium and the development of breast cancer. *Cancer Causes Control* 2000; 11: 121-7.
- Crowell PL. Monoterpenes in breast cancer chemoprevention. *Breast Cancer Res Treat* 1997; 46: 191-7.
- Kline K, Lawson KA, Yu W, Sanders BG. Vitamin E and breast cancer prevention: current status and future potential. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 2003; 8: 91-102.
- El-Bayoumy K, Sinha R. Mechanisms of mammary cancer chemoprevention by organoselenium compounds. *Mutat Res* 2004; 551: 181-97.
- Cave WT, Jr. Omega-3 polyunsaturated fatty acids in rodent models of breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 1997; 46: 239-46.
- Hakkak R, Korourian S, Shelnett SR, Lensing S, Ronis MJ, Badger TM. Diets containing whey proteins or soy protein isolate protect against 7,12-dimethylbenz(a)anthracene-induced mammary tumors in female rats. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2000; 9: 113-7.
- Rowlands JC, He L, Hakkak R, Ronis MJ, Badger TM. Soy and whey proteins downregulate DMBA-induced liver and mammary gland CYP1 expression in female rats. *J Nutr* 2001; 131: 3281-7.
- Malejka-Giganti D, Niehans GA, Reichert MA, Bliss RL. Post-initiation treatment of rats with indole-3-carbinol or beta-naphthoflavone does not suppress 7, 12-dimethylbenz[a]anthracene-induced mammary gland carcinogenesis. *Cancer Lett* 2000; 160: 209-18.
- Medina D, Thompson HJ. A comparison of the salient features of mouse, rat, and human mammary tumorigenesis. En: Asch BB, editor. *Methods in mammary gland biology and breast cancer research*. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers; 2000. p. 31-36.
- Thompson HJ. Methods for the induction of mammary carcinogenesis in the rat using either 7,12-dimethylbenz[a]anthracene or 1-methyl-1-nitrosourea. En: Asch BB, editor. *Methods in mammary gland biology and breast cancer research*. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers; 2000. p. 19-29.
- Thompson H, Sporn MB. Mammary cancer in rats. En: Teicher BA, editor. *Tumor models in cancer research*. Totowa, NJ: Humana Press; 2002. p. 173-181.
- Clarke R. Animal models of breast cancer: experimental design and their use in nutrition and psychosocial research. *Breast Cancer Res Treat* 1997; 46: 117-33.
- Sporn MB, Dunlop NM, Newton DL, Smith JM. Prevention of chemical carcinogenesis by vitamin A and its synthetic analogs (retinoids). *Fed Proc* 1976; 35: 1332-8.
- Sporn MB, Newton DL. Chemoprevention of cancer with retinoids. *Fed Proc* 1979; 38: 2528-34.
- Fisher B, Costantino JP, Wickerham DL, Redmond CK, Kavanah M, Cronin WM, et al. Tamoxifen for prevention of breast cancer: report of the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project P-1 Study. *J Natl Cancer Inst* 1998; 90: 1371-88.

24. Strasser-Weippl K, Goss PE. Prevention of breast cancer using SERMs and aromatase inhibitors. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 2003; 8: 5-18.
25. Lajolo FM. Functional foods: Latin American perspectives. *Br J Nutr* 2002; 88 Suppl 2: S145-50.
26. Fay MP, Freedman LS. Meta-analyses of dietary fats and mammary neoplasms in rodent experiments. *Breast Cancer Res Treat* 1997; 46: 215-23.
27. Thompson HJ, Zhu Z, Jiang W. Dietary energy restriction in breast cancer prevention. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 2003; 8: 133-42.
28. Rogers AE. Diet and breast cancer: studies in laboratory animals. *J Nutr* 1997; 127: 933S-935S.
29. Clinton SK. Diet, anthropometry and breast cancer: integration of experimental and epidemiologic approaches. *J Nutr* 1997; 127: 916S-920S.
30. Kritchevsky D. Caloric restriction and experimental mammary carcinogenesis. *Breast Cancer Res Treat* 1997; 46: 161-7.
31. Carroll KK, Kohr HT. Dietary fat in relation to tumorigenesis. *Prog Biochem Pharmacol* 1975; 10: 308-353.
32. Willett WC. Fat, energy and breast cancer. *J Nutr* 1997; 127: 921S-923S.
33. Zhu Z, Jiang W, Thompson HJ. Mechanisms by which energy restriction inhibits rat mammary carcinogenesis: in vivo effects of corticosterone on cell cycle machinery in mammary carcinomas. *Carcinogenesis* 2003; 24: 1225-31.
34. Lamartiniere CA. Protection against breast cancer with genistein: a component of soy. *Am J Clin Nutr* 2000; 71: 1705S-7S; discussion 1708S-9S.
35. Davis SR, Dalais FS, Simpson ER, Murkies AL. Phytoestrogens in health and disease. *Recent Prog Horm Res* 1999; 54: 185-210; discussion 210-1.
36. Kurzer MS, Xu X. Dietary phytoestrogens. *Annu Rev Nutr* 1997; 17: 353-81.
37. Wei H, Bowen R, Cai Q, Barnes S, Wang Y. Antioxidant and antipromotional effects of the soybean isoflavone genistein. *Proc Soc Exp Biol Med* 1995; 208: 124-130.
38. Russo IH, Russo J. Role of hormones in mammary cancer initiation and progression. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 1998; 3: 49-61.
39. Yang J, Yoshizawa K, Nandi S, Tsubura A. Protective effects of pregnancy and lactation against N-methyl-N-nitrosourea-induced mammary carcinomas in female Lewis rats. *Carcinogenesis* 1999; 20: 623-8.
40. Guzman RC, Yang J, Rajkumar L, Thordarson G, Chen X, Nandi S. Hormonal prevention of breast cancer: mimicking the protective effect of pregnancy. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96: 2520-5.
41. Rajkumar L, Guzman RC, Yang J, Thordarson G, Talamantes F, Nandi S. Short-term exposure to pregnancy levels of estrogen prevents mammary carcinogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98: 11755-9.
42. Rajkumar L, Guzman RC, Yang J, Thordarson G, Talamantes F, Nandi S. Prevention of mammary carcinogenesis by short-term estrogen and progestin treatments. *Breast Cancer Res* 2004; 6: R31-7.
43. Abrams TJ, Guzman RC, Swanson SM, Thordarson G, Talamantes F, Nandi S. Changes in the parous rat mammary gland environment are involved in parity-associated protection against mammary carcinogenesis. *Anticancer Res* 1998; 18: 4115-21.
44. Thordarson G, Van Horn K, Guzman RC, Nandi S, Talamantes F. Parous rats regain high susceptibility to chemically induced mammary cancer after treatment with various mammotropic hormones. *Carcinogenesis* 2001; 22: 1027-33.
45. D'Cruz CM, Moody SE, Master SR, Hartman JL, Keiper EA, Imielinski MB, et al. Persistent parity-induced changes in growth factors, TGF-beta3, and differentiation in the rodent mammary gland. *Mol Endocrinol* 2002; 16: 2034-51.
46. Lamartiniere CA, Moore J, Holland M, Barnes S. Neonatal genistein chemoprevents mammary cancer. *Proc Soc Exp Biol Med* 1995; 208: 120-3.
47. Murrill WB, Brown NM, Zhang JX, Manzillo PA, Barnes S, Lamartiniere CA. Prepubertal genistein exposure suppresses mammary cancer and enhances gland differentiation in rats. *Carcinogenesis* 1996; 17: 1451-7.
48. Lamartiniere CA, Murrill WB, Manzillo PA, Zhang JX, Barnes S, Zhang X, et al. Genistein alters the ontogeny of mammary gland development and protects against chemically-induced mammary cancer in rats. *Proc Soc Exp Biol Med* 1998; 217: 358-64.
49. Fritz WA, Coward L, Wang J, Lamartiniere CA. Dietary genistein: perinatal mammary cancer prevention, bioavailability and toxicity testing in the rat. *Carcinogenesis* 1998; 19: 2151-8.
50. Lamartiniere CA, Cotroneo MS, Fritz WA, Wang J, Mentor-Marcel R, Elgavish A. Genistein chemoprevention: timing and mechanisms of action in murine mammary and prostate. *J Nutr* 2002; 132: 552S-558S.
51. Lamartiniere CA, Wang J, Smith-Johnson M, Eltoum IE. Daidzein: bioavailability, potential for reproductive toxicity, and breast cancer chemoprevention in female rats. *Toxicol Sci* 2002; 65: 228-38.
52. Chen J, Tan KP, Ward WE, Thompson LU. Exposure to flaxseed or its purified lignan during suckling inhibits chemically induced rat mammary tumorigenesis. *Exp Biol Med (Maywood)* 2003; 228: 951-8.
53. Tou JC, Chen J, Thompson LU. Flaxseed and its lignan precursor, secoisolariciresinol diglycoside, affect pregnancy outcome and reproductive development in rats. *J Nutr* 1998; 128: 1861-8.
54. Tan KP, Chen J, Ward WE, Thompson LU. Mammary gland morphogenesis is enhanced by exposure to flaxseed or its major lignan during suckling in rats. *Exp Biol Med (Maywood)* 2004; 229: 147-57.
55. Cotroneo MS, Wang J, Fritz WA, Eltoum IE, Lamartiniere CA. Genistein action in the prepubertal mammary gland in a chemoprevention model. *Carcinogenesis* 2002; 23: 1467-74.
56. Nahta R, Hortobagyi GN, Esteva FJ. Growth factor receptors in breast cancer: potential for therapeutic intervention. *Oncologist* 2003; 8: 5-17.
57. Zhou J-R, Erdman Jr.; JW. Soy Consumption and cancer prevention. En: Bendich A y Deckerbaum RJ, eds. *Preventive nutrition: the comprehensive guide for health professionals, third edition*. Totowa, NJ: Humana Press; 2005. p. 123-155.
58. Constantinou AJ, Krygier AE, Metha RR. Genistein induces maturation of cultured human breast cancer cell and prevents

- tumor growth in nude mice. *Am J Clin Nutr* 1998; 68(suppl): 1426S-30S.
59. Blaner WS. *Biochemistry and pharmacology of retinoids*. En: Lotan R, editor. *Retinoids in oncology*. New York: Marcel Dekker; 1993. p. 1-41.
 60. Yang LM, Tin UC, Wu K, Brown P. Role of retinoid receptors in the prevention and treatment of breast cancer. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 1999; 4: 377-88.
 61. Mangelsdorf DJ, Thummel C, Beato M, Herrlich P, Schutz G, Umesono K, et al. The nuclear receptor superfamily: the second decade. *Cell* 1995; 83: 835-9.
 62. Chambon P. A decade of molecular biology of retinoic acid receptors. *Faseb J* 1996; 10: 940-54.
 63. Moon RC, Constantinou AI. Dietary retinoids and carotenoids in rodent models of mammary tumorigenesis. *Breast Cancer Res Treat* 1997; 46: 181-9.
 64. Lotan R. Retinoids in cancer chemoprevention. *FASEB J* 1996; 10: 1031-9.
 65. Pfahl M, Chytil F. Regulation of metabolism by retinoic acid and its nuclear receptors. *Annu Rev Nutr* 1996; 16: 257-83.
 66. Formelli F, Barua AB, Olson JA. Bioactivities of N-(4-hydroxyphenyl) retinamide and retinoyl beta-glucuronide. *FASEB J* 1996; 10: 1014-24.
 67. Anzano MA, Byers SW, Smith JM, Peer CW, Mullen LT, Brown CC, et al. Prevention of breast cancer in the rat with 9-cis-retinoic acid as a single agent and in combination with tamoxifen. *Cancer Res* 1994; 54: 4614-7.
 68. Garcia-Solis P, Aceves C. 5'Deiodinase in two breast cancer cell lines: effect of triiodothyronine, isoproterenol and retinoids. *Mol Cell Endocrinol* 2003; 201: 25-31.
 69. Cohen LA. A review of animal model studies of tomato carotenoids, lycopene, and cancer chemoprevention. *Exp Biol Med (Maywood)* 2002; 227: 864-8.
 70. Grubbs CJ, Eto I, Juliana MM, Whitaker LM. Effect of canthaxanthin on chemically induced mammary carcinogenesis. *Oncology* 1991; 48: 239-45.
 71. Cohen LA, Zhao Z, Pittman B, Khachik F. Effect of dietary lycopene on N-methylnitrosourea-induced mammary tumorigenesis. *Nutr Cancer* 1999; 34: 153-9.
 72. Belury MA. Dietary conjugated linoleic acid in health: physiological effects and mechanisms of action. *Annu Rev Nutr* 2002; 22: 505-31.
 73. Ip MM, Masso-Welch PA, Ip C. Prevention of mammary cancer with conjugated linoleic acid: role of the stroma and the epithelium. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 2003; 8: 103-18.
 74. Belury MA, Nickel KP, Bird CE, Wu Y. Dietary conjugated linoleic acid modulation of phorbol ester skin tumor promotion. *Nutr Cancer* 1996; 26: 149-57.
 75. Ha YL, Grimm NK, Pariza MW. Anticarcinogens from fried ground beef: heat-altered derivatives of linoleic acid. *Carcinogenesis* 1987; 8: 1881-7.
 76. Park HS, Ryu JH, Ha YL, Park JH. Dietary conjugated linoleic acid (CLA) induces apoptosis of colonic mucosa in 1,2-dimethylhydrazine-treated rats: a possible mechanism of the anticarcinogenic effect by CLA. *Br J Nutr* 2001; 86: 549-55.
 77. Ip C, Chin SF, Scimeca JA, Pariza MW. Mammary cancer prevention by conjugated dienoic derivative of linoleic acid. *Cancer Res* 1991; 51: 6118-24.
 78. Ip C, Singh M, Thompson HJ, Scimeca JA. Conjugated linoleic acid suppresses mammary carcinogenesis and proliferative activity of the mammary gland in the rat. *Cancer Res* 1994; 54: 1212-5.
 79. Ip MM, Masso-Welch PA, Shoemaker SF, Shea-Eaton WK, Ip C. Conjugated linoleic acid inhibits proliferation and induces apoptosis of normal rat mammary epithelial cells in primary culture. *Exp Cell Res* 1999; 250: 22-34.
 80. Ip C, Scimeca JA, Thompson H. Effect of timing and duration of dietary conjugated linoleic acid on mammary cancer prevention. *Nutr Cancer* 1995; 24: 241-7.
 81. Ip C, Briggs SP, Haegle AD, Thompson HJ, Storkson J, Scimeca JA. The efficacy of conjugated linoleic acid in mammary cancer prevention is independent of the level or type of fat in the diet. *Carcinogenesis* 1996; 17: 1045-50.
 82. Ip C, Banni S, Angioni E, Carta G, McGinley J, Thompson HJ, et al. Conjugated linoleic acid-enriched butter fat alters mammary gland morphogenesis and reduces cancer risk in rats. *J Nutr* 1999; 129: 2135-42.
 83. Banni S, Angioni E, Murru E, Carta G, Melis MP, Bauman D, et al. Vaccenic acid feeding increases tissue levels of conjugated linoleic acid and suppresses development of premalignant lesions in rat mammary gland. *Nutr Cancer* 2001; 41: 91-7.
 84. Corl BA, Barbano DM, Bauman DE, Ip C. cis-9, trans-11 CLA derived endogenously from trans-11 18:1 reduces cancer risk in rats. *J Nutr* 2003; 133: 2893-900.
 85. Lock AL, Corl BA, Barbano DM, Bauman DE, Ip C. The anticarcinogenic effect of trans-11 18:1 is dependent on its conversion to cis-9, trans-11 CLA by delta9-desaturase in rats. *J Nutr* 2004; 134: 2698-704.
 86. Ip C, Ip MM, Loftus T, Shoemaker S, Shea-Eaton W. Induction of apoptosis by conjugated linoleic acid in cultured mammary tumor cells and premalignant lesions of the rat mammary gland. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2000; 9: 689-96.
 87. Banni S, Angioni E, Casu V, Melis MP, Carta G, Corongiu FP, et al. Decrease in linoleic acid metabolites as a potential mechanism in cancer risk reduction by conjugated linoleic acid. *Carcinogenesis* 1999; 20: 1019-24.
 88. Ip C, Dong Y, Thompson HJ, Bauman DE, Ip MM. Control of rat mammary epithelium proliferation by conjugated linoleic acid. *Nutr Cancer* 2001; 39: 233-8.
 89. Masso-Welch PA, Zangani D, Ip C, Vaughan MM, Shoemaker S, Ramirez RA, et al. Inhibition of angiogenesis by the cancer chemopreventive agent conjugated linoleic acid [se publica una fe de erratas en *Cancer Res* 2002; 62:5624]. *Cancer Res* 2002; 62: 4383-9.
 90. Belury MA. Inhibition of carcinogenesis by conjugated linoleic acid: potential mechanisms of action. *J Nutr* 2002; 132: 2995-8.
 91. Shen Q, Brown PH. Novel agents for the prevention of breast cancer: targeting transcription factors and signal transduction pathways. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 2003; 8: 45-73.
 92. Moya-Camarena SY, Vanden Heuvel JP, Blanchard SG, Leesnitzer LA, Belury MA. Conjugated linoleic acid is a potent naturally occurring ligand and activator of PPAR-alpha. *J Lipid Res* 1999; 40: 1426-33.

93. Belury MA, Moya-Camarena SY, Lu M, Shi L, Leesnitzer LM, Blanchard SG. Conjugated linoleic acid is an activator and ligand for peroxime proliferators-activated receptor-gamma. *Nutr Res* 2002; 22: 817-824.
94. Sporn MB, Suh N, Mangelsdorf DJ. Prospects for prevention and treatment of cancer with selective PPAR-gamma modulators (SPARMs). *Trends Mol Med* 2001; 7: 395-400.
95. Masso-Welch P, Zangani D, Ip C, Vaughan MM, Shoemaker SF, McGee SO, Ip MM. Isomers of conjugated linoleic acid differ in their effects on angiogenesis and survival of mouse mammary adipose vasculature. *J Nutr* 2004; 134: 299-307.
96. McCann SE, Ip C, Ip MM, McGuire MK, Muti P, Edge SB, Trevisan M, Freudenheim JL. Dietary intake of conjugated Linoleic acids and risk of premenopausal and postmenopausal breast cancer, western NewYork exposures and breast cancer study (Web study). *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2004; 13: 1480-4.
97. Teas J, Harbison ML, Gelman RS. Dietary seaweed (Laminaria) and mammary carcinogenesis in rats. *Cancer Res* 1984; 44: 2758-61.
98. Yamamoto I, Maruyama H, Moriguchi M. The effect of dietary seaweeds on 7,12-dimethyl-benz[a]anthracene-induced mammary tumorigenesis in rats. *Cancer Lett* 1987; 35: 109-18.
99. Funahashi H, Imai T, Tanaka Y, Tsukamura K, Hayakawa Y, Kikumori T, et al. Wakame seaweed suppresses the proliferation of 7,12-dimethylbenz(a)-anthracene-induced mammary tumors in rats. *Jpn J Cancer Res* 1999; 90: 922-7.
100. Funahashi H, Imai T, Mase T, Sekiya M, Yokoi K, Hayashi H, et al. Seaweed prevents breast cancer? *Jpn J Cancer Res* 2001; 92: 483-7.
101. Eskin BA. Iodine metabolism and breast cancer. *Trans N Y Acad Sci* 1970; 32: 911-47.
102. Eskin BA, Shuman R, Krouse T, Merion JA. Rat mammary gland atypia produced by iodine blockade with perchlorate. *Cancer Res* 1975; 35: 2332-9.
103. Eskin BA, Grotkowski CE, Connolly CP, Ghent WR. Different tissue responses for iodine and iodide in rat thyroid and mammary glands. *Biol Trace Elem Res* 1995; 49: 9-19.
104. Funahashi H, Imai T, Tanaka Y, Tobinaga J, Wada M, Morita T, et al. Suppressive effect of iodine on DMBA-induced breast tumor growth in the rat. *J Surg Oncol* 1996; 61: 209-13.
105. Garcia-Solis P, Alfaro Y, Anguiano B, Delgado G, Guzman RC, Nandi S, Díaz-Muñoz M, Vázquez-Martínez O, Aceves C. Inhibition of *N*-methyl-*N*-nitrosourea-induced mammary carcinogenesis by molecular iodine (I₂) but not by iodide (I⁻) treatment. Evidence that I₂ prevents cancer promotion. *Mol Cell Endocrinol* 2005; 236:49-57.
106. Venturi S, Donati FM, Venturi A, Venturi M. Environmental iodine deficiency: A challenge to the evolution of terrestrial life? *Thyroid* 2000; 10: 727-9.
107. Smyth PP. Role of iodine in antioxidant defence in thyroid and breast disease. *Biofactors* 2003; 19: 121-30.
108. Murata A, Suenaga H, Hideshima S, Tanaka Y, Kato F. Hydroxyl radical as the reactive species in the inactivation of phages by ascorbic acid. *Agric Biol Chem* 1986; 50: 1481-7.
109. Winkler R, Griebenow S, Wonisch W. Effect of iodide on total antioxidant status of human serum. *Cell Biochem Funct* 2000; 18: 143-6.
110. Katamine S, Hoshino N, Totsuka K, Suzuki M. Effects of the long-term (17-19 months) feeding of high-iodine eggs on lipid metabolism and thyroid function in rats. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)* 1985; 31: 339-53.
111. Mutaku JF, Poma JF, Many MC, Deneff JF, van Den Hove MF. Cell necrosis and apoptosis are differentially regulated during goitre development and iodine-induced involution. *J Endocrinol* 2002; 172: 375-86.
112. Pisarev MA, Gartner R. Autoregulatory actions of iodine. En: Utiger R, editor. *Werner & Ingbar's the thyroid: a fundamental and clinical text*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2000. p. 85-90.
113. Vitale M, Di Matola T, D'Ascoli F, Salzano S, Bogazzi F, Fenzi G, et al. Iodide excess induces apoptosis in thyroid cells through a p53-independent mechanism involving oxidative stress. *Endocrinology* 2000; 141: 598-605.
114. Zhang L, Sharma S, Zhu LX, Kogai T, Hershman JM, Brent GA, et al. Nonradioactive iodide effectively induces apoptosis in genetically modified lung cancer cells. *Cancer Res* 2003; 63: 5065-72.
115. Aceves C, Anguiano B, Delgado G. Is iodine a gatekeeper of the integrity of the mammary gland? *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 2005; 10:189-95.
116. Thrall KD, Sauer RL, Bull RJ. Evidence of thyroxine formation following iodine administration in Sprague-Dawley rats. *J Toxicol Environ Health* 1992; 37: 535-48.
117. Strum JM. Site of iodination in rat mammary gland. *Anat Rec* 1978; 192: 235-44.
118. Ghent WR, Eskin BA, Low DA, Hill LP. Iodine replacement in fibrocystic disease of the breast. *Can J Surg* 1993; 36: 453-460.
119. Kessler JH. The effect of supraphysiologic levels of iodine on patients with cyclic mastalgia. *Breast J* 2004; 10: 238-336.

Recibido: 04-02-2005

Aceptado:26-09-2005