

Progestinas y cáncer de seno*

Recibido para publicación enero 16 2008. Revisado y aceptado 25 de abril de 2008

JORGE R. PASQUALINI**

RESUMEN

Las progestinas ejercen su actividad progestacional al unirse al receptor de progesterona (la forma A la más activa y la forma B la menos activa), pero también pueden interactuar con otros receptores esteroideos (andrógenos, glucocorticoides, mineralocorticoides, estrógenos). Pueden tener efectos importantes en otros tejidos aparte del endometrio, incluyendo el seno, el hígado, el hueso y el cerebro. Las respuestas biológicas de las progestinas cubren una gran variedad de dominios: lípidos, carbohidratos, proteínas, regulación de agua y electrolitos, hemostasia, fibrinólisis y sistemas cardiovascular e inmunológico. Hasta el momento se han sintetizado más de 200 progestinas, pero su respuesta biológica puede ser diferente de una a otra dependiendo de su estructura, metabolismo, afinidad por los receptores, condiciones experimentales, tejido blanco o línea celular, así como del tipo de respuesta biológica considerada.

Hay evidencia sustancial que el tejido de cáncer mamario contiene todas las enzimas responsables para la biosíntesis local de estradiol (E_2) de precursores circulantes. Dos vías principales están implicadas en los pasos finales de la formación de E_2 en el tejido de cáncer mamario: la 'vía de la aromatasas' que transforma andrógenos en estrógenos y la 'vía de la sulfatasas' que convierte sulfato de estrona (E_1S) en estrona (E_1) a través de la sulfatasa de estrona. El paso final es la conversión de la débil E_1 al potente y biológicamente activo E_2 a través de la vía reductiva de la actividad de la 17 β -hidroxiesteroide deshidrogenada tipo 1. También está bien establecido que las sulfotransferasas de esteroides, que convierten estrógenos en sus sulfatos, están presentes en tejidos de cáncer de seno.

Se ha demostrado que varias progestinas (p. ej. acetato de nomegestrol, medrogestona, promegestona), así como la tibolona y sus metabolitos pueden bloquear las enzimas implicadas en la bioformación de E_2 (sulfatasa, 17 β -hidroxiesteroide deshidrogenada) en células de cáncer de seno. Estas sustancias también estimulan la actividad de la sulfotransferasa que convierte los estrógenos en sulfatos biológicamente inactivos. La acción de las progestinas en el cáncer de seno es muy controversial; algunos estudios indican un incremento en la incidencia de cáncer de seno, otros no muestran diferencia e incluso otros muestran una pequeña disminución. La acción de las progestinas también puede ser función de la combinación con otras moléculas (p. ej. estrógenos). Para poder aclarar y entender mejor la respuesta de las progestinas en el cáncer de seno (incidencia, mortalidad), así como en la terapia de reemplazo hormonal o la disfunción endocrina, se requieren nuevos ensayos clínicos que evalúen otras progestinas en función de dosis y tiempo de tratamiento.

Palabras clave: progestinas, cáncer de seno, estrógenos, enzimas, terapia de reemplazo hormonal.

* Traducido del inglés: Germán Barón C. MD.

** Unidad de Hormonas e Investigación de Cáncer, Instituto de Puericultura y Perinatología, París, Francia. Gynecological Endocrinology, October 2007; 23(S1): 32-41.

ABSTRACT

Progestins exert their progestational activity by binding to the progesterone receptor (form A, the most active and form B, the less active) and may also interact with other steroid receptors (androgen, glucocorticoid, mineralocorticoid, estrogen). They can have important effects in other tissues besides the endometrium, including the breast, liver, bone and brain. The biological responses of progestins cover a very large domain: lipids, carbohydrates, proteins, water and electrolyte regulation, hemostasis, fibrinolysis, and cardiovascular and immunological systems. At present, more than 200 progestin compounds have been synthesized, but the biological response could be different from one to another depending on their structure, metabolism, receptor affinity, experimental conditions, target tissue or cell line, as well as the biological response considered.

There is substantial evidence that mammary cancer tissue contains all the enzymes responsible for the local biosynthesis of estradiol (E2) from circulating precursors. Two principal pathways are implicated in the final steps of E2 formation in breast cancer tissue: the 'aromatase pathway', which transforms androgens into estrogens, and the 'sulfatase pathway', which converts estrone sulfate (E1S) into estrone (E1) via estrone sulfatase. The final step is the conversion of weak E1 to the potent biologically active E2 via reductive 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 activity. It is also well established that steroid sulfotransferases, which convert estrogens into their sulfates, are present in breast cancer tissues.

It has been demonstrated that various progestins (e.g. norgestrel acetate, medrogestone, promegestone) as well as tibolone and their metabolites can block the enzymes involved in E2 bioformation (sulfatase, 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase) in breast cancer cells. These substances can also stimulate the sulfotransferase activity which converts estrogens into the biologically inactive sulfates. The action of progestins in breast cancer is very controversial; some studies indicate an increase in breast cancer incidence, others show no difference and still others a significant decrease. Progestin action can also be a function of combination with other molecules (e.g. estrogens). In order to clarify and better understand the response of progestins in breast cancer (incidence, mortality), as well as in hormone replacement therapy or endocrine dysfunction, new clinical trials are needed studying other progestins as a function of the dose and period of treatment.

Key words: progestins, breast cancer, estrogens, enzymes, hormone replacement therapy.

Introducción

La progesterona puede tener múltiples e importantes efectos biológicos en una variedad de tejidos, tales como el endometrio, el seno, el hígado, el hueso y el cerebro. Estas acciones cubren un gran dominio que incluye lípidos, carbohidratos, proteínas, regulación de agua y electrolitos, hemostasia y fibrinólisis, así como los sistemas cardiovascular e inmunológico. Hasta el presente se han sintetizado más de 200 progestinas, pero difieren una de otra en términos de su estructura, metabolismo, afinidad por el receptor, tejidos blanco, efectos biológicos, dosis requeridas y uso de clones de células. En esta revisión se resumen las acciones de las

diversas progestinas en el tejido mamario, incluyendo sus efectos en las enzimas comprometidas en la formación y la transformación de estrógenos y en la proliferación celular, así como los desarrollos recientes y las implicaciones clínicas de las progestinas en el cáncer de seno.

Clasificación de las progestinas

La progestina más cercana a la progesterona natural es la retroprogesterona, seguida por los derivados pregnanos (17-hidroxiprogesterona, C21) y los derivados 19-norprogesterona (19-norpregnano, C20). Un grupo clínicamente importante y la base para una contracepción

hormonal efectiva es el de los derivados de la 19-nortestosterona, que pueden subdividirse en estranos (C18) y gonanos (C17). Un derivado de la espironolactona también ha sido desarrollado recientemente para uso clínico. Algunos de estos compuestos son pro-drogas, que son metabolizadas a compuestos activos en el hígado (p.ej. promegestona es convertida a trimegestona, desogestrel a 3-keto-desogestrel y norgestimato a norgestrel)¹⁻⁴. La Tabla 1 resume los diferentes grupos estructurales de las progestinas y sus miembros.

La unión a receptores es importante para la respuesta biológica de las progestinas. La afinidad por el receptor varía ampliamente entre las diversas progestinas; la Tabla 2 muestra la afinidad relativa de estas moléculas, considerando la de la progesterona como 100%⁵⁻⁷.

Evolución del cáncer de seno

Inicialmente la mayoría de cánceres (aproximadamente 95%) son hormono-dependientes, donde el estrógeno estradiol (E₂) juega un papel importante en el desarrollo y la progresión del tumor⁸⁻¹⁰. El complejo hormona-receptor de estrógenos (RE) puede mediar la activación de proto-oncogenes y oncogenes (p.ej. *c-fos*, *c-myc*) y proteínas nucleares, así como otros genes blanco. Luego de un período que puede durar varios

años, el tumor se vuelve hormono-independiente por un mecanismo, que aunque no totalmente elucidado, actualmente está bajo estudio. Una explicación para la progresión hacia la independencia de hormonas puede ser la presencia de mutantes del RE^{11,12}. En células hormono-dependientes la interacción de la hormona con la molécula receptora es el paso básico para desencadenar una respuesta hormonal. A medida que el cáncer evoluciona, mutaciones, deleciones y truncamientos aparecen en el gene receptor^{13,14}; el RE se vuelve 'no funcional' y, a pesar de la unión del estrógeno, la célula falla en responder a la hormona. La Figura 1 describe la progresión de las células mamarias normales hacia un carcinoma hormono-independiente. Un RE 'no funcional' puede explicar por qué 35 a 40% de las pacientes con tumores RE - positivos fallan en responder a la terapia anti-estrogénica^{15,16}.

La progesterona es otro partícipe mayor, aunque controversial, en la biología de la glándula mamaria. Esta hormona esteroidea ovárica también actúa, en conjunto con el estrógeno, a través de su receptor específico (RP) en el epitelio normal para regular el desarrollo del seno. Los efectos de estas hormonas en la actividad proliferativa de la mama, que son indispensables para su normal crecimiento y desarrollo, han sido y siguen siendo, motivo de

Tabla 1. Clasificación de las progestinas¹⁻⁴.

Grupo estructural	Progestina
Progesterona	Progesterona natural
Retroprogesterona	Didrogesterona
Derivados de la progesterona	Medrogestone
Derivados 17β-hidroxiprogesterona (pregnanos)	Medroxiprogesterona acetato, meggestrol acetato, clormadinona acetato, ciproterona acetato
Derivados 17β-hidroxiprogesterona (norpregnanos)	Gestonorona caproato, momegestrol acetato
Derivados 19-norprogesterona (norpregnanos)	Demegestona, promegestona, nesterona, trimegestona
Derivados 19-nortestosterona (estrano)	Noretisterone (1-4noretindrona), noretisterona acetato; linestrenol, noretindronel, etinodiol acetato
Derivados 19-nortestosterona (gonanos)	Norgestrel, levonorgestrel, desogestrel, etenogestrel, gestodeno, norgestimato, dienogest
Derivado espironolactona	Drospirenona

Derivado espironolactona Drospirenona.

Tabla 2. Afinidad relativa de unión de la progesterona y progestinas sintéticas a los receptores de esteroides y proteínas transportadoras séricas⁵⁻⁷.

	PgR	AR	ER	GR	MR	SHBG	CBG
Progesterona	50	0	0	10	100	0	36
Didrogestrona	75	0	-	-	-	-	-
Acetato de clormadinona	67	5	0	8	0	0	0
Acetato de ciproterona	90	6	0	6	8	0	0
Acetato de medroxiprogesterona	115	5	0	29	160	0	0
Acetato de megestrol	65	5	0	30	0	0	0
Nomegestrol	125	6	0	6	0	0	0
Promegestona (R-5020)	100	0	0	5	53	0	0
Drospirenona	35	65	0	6	0	0	0
Noretisterona	75	15	0	0	0	16	0
Levonorgestrel	150	45	0	1	75	50	0
Norgestimato	15	0	0	1	0	0	0
3-Keto-desogestrel	150	20	0	14	0	15	0
Gestodeno	90	85	0	27	290	40	0
Dienogest	5	10	0	1	0	0	0

PgR, receptor de progesterona (promegestona = 100%); AR, receptor de andrógenos (metribolona = 100%); ER, receptor de estrógenos (17 β -estradiol = 100%); GR, receptor de glucocorticoides (dexametasona = 100%); MR, receptor de mineralocorticoides (aldosterona = 100%); SHBG, globulina transportadora de esteroides sexuales (dihidrotestosterona = 100%); CBG, globulina transportadora de corticosteroides (cortisol = 100%).

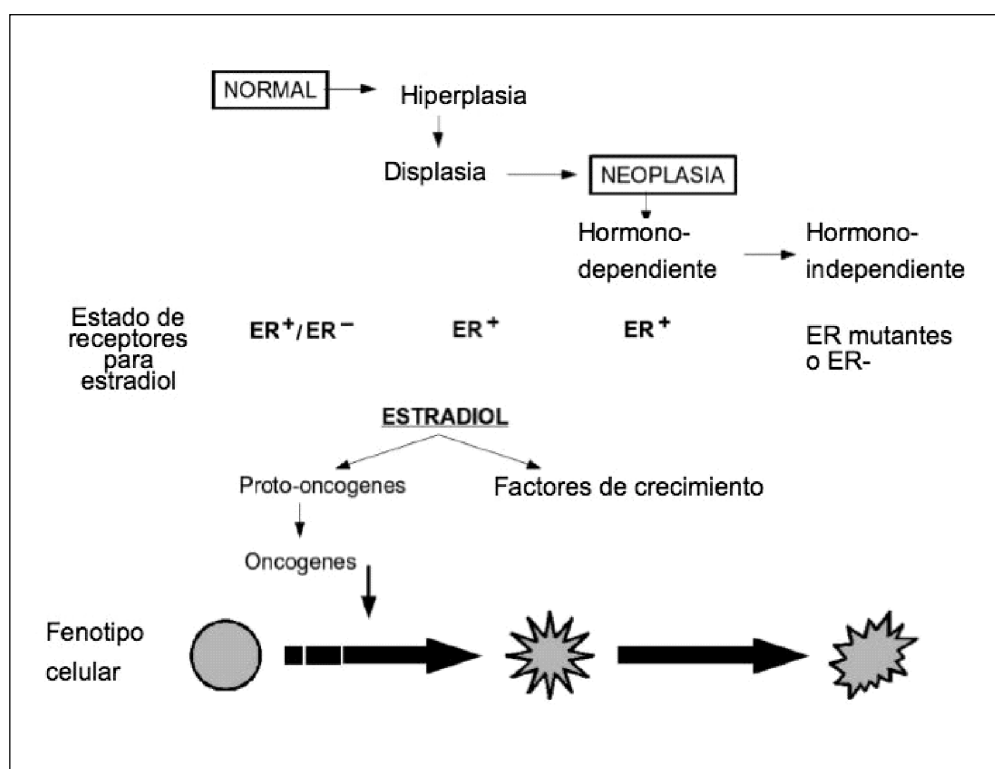


Figura 1. Evolución de la transformación de las células mamarias desde la normalidad hasta el cáncer (RE⁺, receptor de estrógenos positivo, i.e. detectable y funcional; RE mutantes, receptor de estrógenos detectable pero no funcional; RE⁻, receptor de estrógenos negativo, i.e. no detectable).

gran controversia¹⁷. El 5% restante de los cánceres de seno, denominados BRCA-1, son considerados hereditarios¹⁸.

El mecanismo subyacente a los diferentes pasos que hay entre una mama normal y un carcinoma invasivo ductal o lobular aún no es claro. Sin embargo en los últimos años, nuevas metodologías que incluyen amplificación del ADN¹⁹, microdissección de tejido²⁰ y análisis de genoma y transcriptoma²¹ han aportado información muy interesante sobre la evolución molecular del cáncer de seno. En el momento se puede aceptar que el cáncer de seno es una enfermedad heterogénea que abarca una gran variedad de actividades patológicas. Se espera que los datos estadísticos sobre estos nuevos aspectos moleculares aporten aplicaciones clínicas útiles.

Concentraciones de estrógenos en el seno normal y canceroso

Los sulfatos de estrógenos son cuantitativamente una de las formas más importantes de estrógenos circulantes. Concentraciones elevadas de estos conjugados se encuentran en los compartimientos fetales y maternos de los humanos y de varias especies animales²². Durante el ciclo menstrual y en la mujer posmenopáusica, los niveles de sulfato de estrona (SE_1) son cinco a diez veces aquellos de los estrógenos no conjugados (estrona, estradiol y estriol)^{23,24}.

La mayoría de autores concuerda en que los niveles plasmáticos de estrona (E_1) y E_2 no conjugados son similares en mujeres normales y en pacientes de cáncer de seno, tanto antes como después de la menopausia. Sin embargo el nivel de SE_1 es significativamente mayor en la fase folicular de las pacientes premenopáusicas con cáncer de seno respecto a mujeres normales²⁵.

Los tejidos de cáncer mamario tienen una gran capacidad de acumular varios estrógenos, particularmente en mujeres posmenopáusicas. Además, estudios comparativos indican que los niveles de estrógeno en los tejidos de cáncer son significativamente más altos que en el área del seno considerado como normal²⁶. La Tabla 3 muestra las concentraciones tisulares de varios estrógenos en pacientes pre y postmenopáusicas con cáncer de seno^{27, 32}.

Enzimas comprometidas en la formación y la transformación de los estrógenos en el tejido mamario y su control por progestinas

Diferentes estudios en varios laboratorios han establecido claramente que los tejidos mamaros tienen la capacidad de bioformación local de estrógenos a partir de precursores circulantes. Dos vías principales están implicadas en los pasos finales de la formación de E_2 en los tejidos de

Tabla 3. Concentraciones de estrógenos no conjugados y sus sulfatos en tejidos mamaros malignos (pmol/g tejido).

	Estrona	Estradiol	Sulfato de estrona	Sulfato de estradiol	Referencia
Premenopausia	1.04	0.70	-	-	[27]
	1.40 ± 0.08	1.20 ± 0.60	1.27 ± 0.36	0.92 ± 0.27	[28]
Posmenopausia	1.14 ± 0.22	1.80 ± 0.29	-	-	[29]
	0.60	0.78	-	-	[27]
	25.18 ±	32.72 ±	14.61 ±	-	[30]
	51.10*	37.95*	19.77*	-	
	(0.37-248.0)*	(1.47-180.5)*	(0.28-97.7)*	-	
	0.25	0.60	-	-	[31]
	1.00 ± 0.15	1.40 ± 0.70	3.35 ± 1.85	1.47 ± 0.11	[25]
	1.06 ± 0.43	1.27 ± 0.59	2.89 ± 1.93	0.97 ± 0.56	[28]
	-	0.169	-	-	[32]
	-	(0.033-0.775)	-	-	

* pmol/g proteína

cáncer mamario: la 'vía de la aromatasa' que transforma andrógenos en estrógenos³³⁻³⁵ y, la 'vía de la sulfatasa', que convierte SE_1 en E_1 a través de la sulfatasa de estrona (EC: 3.1.6.2)^{36, 40}. El paso final de la esteroidogénesis es la conversión de la débil E_1 en el potente y activo biológicamente E_2 por la acción reductora de la 17 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa tipo 1 (EC: 1.1.1.62)^{41, 42}. La evaluación cuantitativa indica que en tumores mamarios humanos el SE_1 por 'vía de la sulfatasa' es mucho más probable como precursor para el E_2 que los andrógenos 'vía aromatasa'^{25,43}.

También está bien establecido que las sulfotransferasas de esteroides, que convierten a los estrógenos en sus sulfatos, se encuentran presentes en los tejidos de cáncer mamario^{44,45}. La Figura 2 da una visión general de la formación y la transformación de los estrógenos en el cáncer de seno humano.

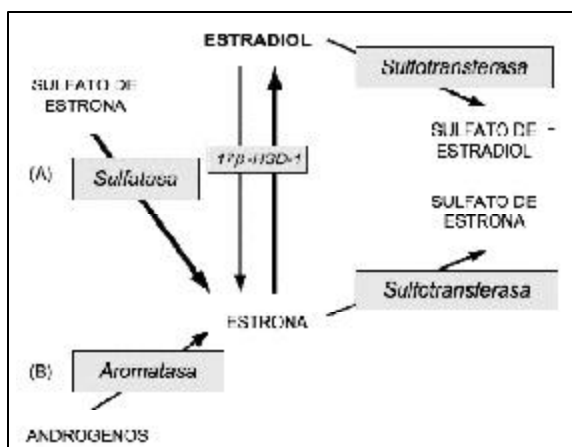


Figura 2. Mecanismo enzimático comprometido en la formación y la transformación de los estrógenos en el cáncer mamario humano; la vía de la sulfatasa (A) es cuantitativamente 100-500 veces mayor que la vía de la aromatasa (B) (17 β -HSD-1, 17 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa tipo 1).

Efecto de las progestinas en la actividad de la sulfatasa de estrona

La actividad de la sulfatasa de estrona en los tumores mamarios es significativamente mayor en mujeres posmenopáusicas que en premenopáusicas y su actividad se incrementa en el sitio del tumor comparada con el área que lo rodea o en

áreas consideradas como 'normales'^{25,26}. No se ha encontrado ninguna correlación entre los niveles de actividad de la sulfatasa y el estado de RE^{46,47}. Sin embargo, en cultivos de células intactas de cáncer de seno, existe una marcada diferencia en la actividad de la sulfatasa entre células hormono-dependientes (MCF-7, T-47D) y hormono-independientes (MDA-MB-231, MDA-MB-468). Mientras las primeras poseen gran actividad, las últimas tienen poco efecto sobre la hidrólisis del SE_1 ^{28,48}. Pero cuando estas células hormono-independientes son expuestas a hormonas, la actividad de la sulfatasa es restaurada^{49,50}. Los datos respecto al mecanismo comprometido en la hidrólisis del sulfato sugieren que 'factores estimuladores' necesarios para actividad de la enzima están presentes en las células hormono-dependientes y posiblemente están ausentes en las células hormono-independientes.

El efecto de las progestinas en la actividad de la sulfatasa en el cáncer de seno ha sido explorado hasta la fecha tan solo en estudios *in vitro*. En tumores mamarios, progestinas tales como demegestona o acetato de clormadinona en concentraciones de 10^{-5} M inhiben la actividad de la sulfatasa en 25 a 50%^{51,52}. Otras progestinas como el acetato de medroxiprogesterona (MPA) y el norgestrel, en la misma concentración, estimulan moderadamente la actividad⁵². En células de cáncer de seno (MCF-7, T-47D), la promegestona, el acetato de nomegestrol, la medrogestona y la noretisterona, así como el danazol, en un rango de concentraciones que oscilan en 5×10^{-7} y 5×10^{-6} M, disminuyen la actividad de la sulfatasa entre 40 y 70%⁵³⁻⁵⁸. La tibolona y sus metabolitos (Org 4094, Org 30126, Org OM38) en dosis bajas (5×10^{-8} M) son agentes anti-sulfatasa muy potentes ya que inhiben la actividad de esta enzima en 80 a 90% en las mismas líneas celulares⁵⁹. R-5020 es un inhibidor competitivo de la enzima sulfatasa en homogenizados de células de cáncer de seno (MCF-7, T-47D)⁶⁰. Esta progestina también puede reducir la expresión de ARNm de la sulfatasa en ambas células, un efecto que se correlaciona con reducción en la actividad enzimática⁶¹. También se ha demostrado que la didrogesterona (Duphaston®) y sus derivados 20-dihidro son inhibidores potentes de la sulfatasa de estrona en células de cáncer de seno MCF-7 y T-47D⁶². La actividad inhibitoria relativa de las progestinas y la tibolona y sus metabolitos se muestra en la Tabla 4^{55,59,63-65}.

Tabla 4. Efecto comparativo de varias progestinas, tibolona y sus metabolitos y estradiol sobre la inhibición de la sulfatasa de estrona en células de cáncer de seno T-47D^{55,59,63-65}.

Compuesto	Inhibición (%)
Progesterona	22
Promegestona	30
20 β -Dihidrogesterona	32
Acetato nomegestrol	45
Acetato medroxiprogesterona	47
Medrogestona	54
Noretisterona	63
4-en isómero de tibolona	69
Norelgestromin	74
3 β -hidro xitibolona	77
3 β -hidroxitibolona	79
Tibolona	82
Estradiol	86

Las células T-47D fueron incubadas con concentraciones fisiológicas de [3 H] sulfato de estrona (5×10^{-9} M) con o sin adición de varios compuestos (5×10^{-7} M). El valor del control para la conversión de sulfato de estrona a estradiol se consideró ser de 100%.

Las progestinas también pueden bloquear la actividad de la sulfatasa en tejidos mamarios totales. Se ha demostrado que el acetato de nomegestrol a 5×10^{-7} M puede inhibir la actividad de la sulfatasa (conversión de SE₁ a E₂) en 23% en el tejido mamario normal y 32% en el tejido de cáncer⁶⁶. En un estudio interesante, Miyoshi y sus colegas⁶⁷ sugirieron que los niveles de ARNm de la sulfatasa pueden servir como un factor pronóstico independiente en cáncer de seno RE - positivo y que niveles más altos de esta enzima se asocian con peor pronóstico.

Efectos de las progestinas en la actividad de la 17 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa

La 17 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa (17 β -HSD) es la enzima que interconvierte los 17-oxo y los 17 β -hidroxi esteroides. Hasta el momento se han caracterizado 14 tipos de esta enzima. En células mamarias, las más importantes con respecto a los estrógenos son la 17 β -HSD tipo 1, que convierte E₁ en E₂ y la 17 β -HSD tipo 2 que transforma E₂ en E₁.

En células epiteliales del seno normal, la progestina promegestona ha mostrado que incrementa la actividad de la 17 β -HSD en la dirección oxidativa (E₂ a E₁) (tipo 2). Este efecto estimulador de las progestinas depende de la sensibilización primaria por los estrógenos^{68,69}.

Las progestinas pueden inducir la actividad de la 17 β -HSD tipo 1, con un aumento tanto en las

especies de ARNm de 1.3-kb como de proteína de la enzima, en las células hormono-dependientes T-47D de cáncer de seno^{70,77}. Coldham y James⁷² encontraron que la MPA estimulaba la actividad reductiva (E₁ a E₂) de las células MCF-7 cuando el rojo fenol era excluido del medio de cultivo tisular. Ellos sugirieron que esta podía ser la vía por la cual las progestinas incrementan la proliferación celular *in vivo*. Por otro lado, Couture y sus asociados⁷³ observaron que cuando las células de cáncer de seno hormono-dependientes ZR-75-1 eran incubadas con MPA, la vía oxidativa (E₂ a E₁) era la predominante; este efecto parece implicar el receptor de andrógenos. Otras progestinas, como progesterona, levonorgestrel y noretisterona, aumentaron tanto la actividad oxidativa como reductiva de la 17 β -HSD en células MCF-7⁷⁴ mientras que la promegestona no tuvo efecto significativo sobre la actividad reductiva de la 17 β -HSD⁷⁵ pero aumentó la oxidativa (E₂ a E₁) en células T-47D⁷⁶.

Efecto de las progestinas en la actividad de la sulfotransferasa

Estudios comparativos sobre la formación de sulfatos de estrógeno luego de la incubación de E₁ con células de cáncer de seno hormono-dependientes (MCF-7, T-47D) y hormono-independientes (MDA-MB231) muestran sulfotransferasas más altas en las primeras^{77,78}.

La medrogestona es un derivado pregnano sintético usado en el tratamiento de la deficien-

cia patológica de la progesterona natural. Tiene actividad secretora en el endometrio previamente estimulado por estrógenos, es termogénica y actúa como antiestrógeno y anti-gonadotropinas. Su efecto sobre la actividad de la sulfotransferasa en células de cáncer de seno MCF-7 y T-47D es bifásico: en bajas concentraciones (5×10^{-8} M) estimula la formación de sulfatos de estrógeno en ambas líneas celulares, mientras que en una concentración mayor (5×10^{-5} M) la actividad de la sulfotransferasa no sufre modificación en las células MCF-7 y se inhibe en las T-47D⁷⁹. Un efecto dual similar sobre la sulfotransferasa fue observado con las progestinas acetato de nomegestrol y promegestona^{78,80} (Tabla 5).

Los efectos en la actividad de sulfotransferasa de la tibolona y sus metabolitos 3β-hidroxitibolona (Org 4094), 3β-hidroxitibolona (Org 30126) y el isómero 4-ene (Org OM 38) se han evaluado en las células de cáncer de seno MCF-7 y T-47D. Estos compuestos también conducen a un efecto dual sobre la actividad de la sulfotransferasa: estimulador en dosis bajas (5×10^{-8} M) pero inhibidor en dosis mayores (5×10^{-5} M). El derivado 3β-hidroxi es el compuesto más potente respecto a los efectos estimuladores sobre las sulfotransferasas⁷⁷. La tabla 5 muestra los efectos comparativos de varias progestinas, así como aquel de la tibolona y sus metabolitos sobre la actividad de la sulfotransferasa en las células de cáncer de seno T-47D⁷⁷⁻⁸¹.

Ya que algunas progestinas, así como la tibolona, pueden estimular la actividad de sulfotransferasa, y que estos compuestos pueden inhibir el crecimiento de células de cáncer de seno o el tamaño de tumores transplantados, surgió la hipótesis de que existe una correlación

entre la proliferación celular y la actividad de sulfotransferasa^{82,83}. Usando la amplificación de la reacción en cadena de la polimerasa - transcriptasa reversa, se detectó la expresión de ARNm de sulfotransferasa de estrógenos en células humanas de cáncer de seno hormono-dependientes MCF-7 y T-47D, así como hormono-independientes MDA-MB-231 y MDA-MD-468. Una correlación interesante con la expresión relativa del ARNm de la sulfotransferasa tipo 1 se encontró en varias de las células de cáncer de seno estudiadas⁷⁸.

Un estudio sobre los efectos de la promegestona en la actividad de la sulfotransferasa humana de estrógenos tipo 1 y su ARNm en las células MCF-7 y T-47D mostró que en dosis bajas, había un incremento significativo en los niveles de ARNm, lo que se correlacionaba con actividad de la enzima. Sin embargo, en dosis mayores se observó un efecto inhibitorio sobre el ARNm y la actividad de la enzima⁷⁸. Falany y sus colaboradores⁸⁴ sugirieron que la pérdida de la expresión de la sulfotransferasa de estrógenos en la transformación de un tejido mamario normal hacia un cáncer de seno puede ser un factor importante para aumentar la respuesta de crecimiento de células preneoplásicas al estímulo estrogénico.

Efecto de las progestinas en la actividad de la aromatasas

Aunque los niveles de actividad de la aromatasas son relativamente bajos en el tejido mamario normal o canceroso^{36,43}, esta producción local de estrógenos 'en el sitio' puede contribuir a la patogénesis de tumores de seno estrógeno-dependientes. El papel de las

Tabla 5. Efecto comparativo de varias progestinas, tibolona y sus metabolitos y estradiol sobre la actividad de la sulfotransferasa en células de cáncer de seno T-47D^{77,81}.

Compuesto	Estimulación (%)
Promegestona (R-5020)	31
Tibolona	41
Acetato nomegestrol	42
Medrogestona	85
3β-hidroxitibolona	102

Las células T-47D fueron incubadas con concentraciones fisiológicas de [H] sulfato de estrona (5×10^{-9} M) con o sin adición de varios compuestos (5×10^{-7} M). El valor del control para la conversión de sulfato de estrona a estrona se consideró ser de 100%.

progestinas sobre la actividad de la aromatasa en el seno es muy limitado. Perel y colaboradores⁸⁵ observaron que las progestinas pueden inhibir la actividad de la aromatasa en cultivos de células de carcinoma de seno. En otra serie de estudios se demostró que el acetato de nomegestrol puede inhibir la actividad de la aromatasa en células de cáncer de seno⁸⁶.

La inhibición de esta enzima con agentes anti-aromatasa es ampliamente utilizada, con resultados muy positivos, en el tratamiento de pacientes con cáncer de seno⁸⁷⁻⁹⁰. Estos inhibidores incluyen compuestos esteroideos y no esteroideos, siendo los más útiles 4-hidroxi-androstenediona, anastrozole (Arimidex[®]), exemestane (Aromasin[®]) y letrozole (Femara[®]). Una serie de revisiones ha sido publicada recientemente sobre los efectos biológicos y las aplicaciones clínicas de estas anti-aromatasa⁹¹⁻⁹³.

Efecto de las progestinas en el cáncer de seno: consecuencias clínicas

El uso de progestinas solas o en combinación con estrógenos en terapia de reemplazo hormonal (TRH) es controversial. En una serie de estudios en los que se evaluó el efecto del MPA o el acetato de noretisterona en un gran número de mujeres, un aumento significativo en la incidencia de cáncer de seno fue observado⁹⁴⁻⁹⁶. Sin embargo, en otro estudio reciente⁹⁷ en 10.000 pacientes japonesas se mostró que la TRH puede disminuir el riesgo relativo de cáncer de seno.

El Estudio del Millón de Mujeres tuvo múltiples errores, suficientes para hacer surgir dudas respecto al cuidado con el que se llevó a cabo y la forma como fue revisado. Shapiro⁹⁸ concluyó que no es posible distinguir entre sesgos y causas como explicaciones alternas para las asociaciones observadas y la conclusión de este estudio, que la TRH aumenta el riesgo de cáncer de seno, no es justificada.

Algunos aspectos sobre la relación entre la TRH y el tipo de tumor permanecen sin ser clarificados. Se ha observado que la incidencia de cáncer de seno en pacientes RE-positivos era mayor que en pacientes RE-negativos⁹⁹. Además se ha sugerido que la TRH aumenta la incidencia de carcinoma lobular más que la de carcinoma ductal¹⁰⁰.

Otro aspecto importante es el efecto de las progestinas sobre la proliferación mamaria y, como se ha indicado previamente, estos datos también son controversiales ya que las diversas progestinas pueden bloquear, estimular o no tener ningún efecto sobre el crecimiento de las células.

Conclusiones

Algunos estudios muestran que la TRH puede aumentar el riesgo relativo de cáncer de seno; sin embargo, es notable que muy pocas progestinas han sido evaluadas. Como se mencionó previamente, es importante entender que no todas las progestinas son similares en estructura y función biológica. El Estudio del Millón de Mujeres, que ha tenido un impacto drástico en el tratamiento de mujeres posmenopáusicas usando progestinas, ha provocado una serie de comentarios que suscitaron críticas serias e importantes. Heikkinen¹⁰¹ consideró que un incremento leve aparente en el riesgo de cáncer de seno con la terapia hormonal combinada debe balancearse contra la reducción en la morbilidad y mortalidad significativas asociadas con fracturas, así como la mejoría en el bienestar, la calidad de vida y la protección potencial contra el cáncer colorrectal y la enfermedad cardiovascular.

Una propiedad interesante de las progestinas es su acción sobre las enzimas involucradas en la formación y la transformación de estrógenos, como se describió anteriormente en la sección sobre progestinas y proliferación de cáncer de seno. Una serie de estudios ha mostrado que varias progestinas pueden tener un efecto benéfico al bloquear la sulfatasa y la 17 β -HSD tipo 1 (las principales enzimas comprometidas en la biosíntesis de estradiol en células de cáncer de seno o tejido total). Estas progestinas pueden también estimular la sulfotransferasa que transforma estrógenos en sulfatos inactivos.

Otro aspecto para considerar es la transformación metabólica de la progesterona y las progestinas. A este respecto es interesante anotar que la conversión de progesterona a 5 β -pregnanos se aumenta, mientras que la conversión a 4-pregnanos disminuye en tejido de carcinoma de seno. El 5 β -pregnano 5 β -pregnano-3,20-diona estimula la proliferación

celular, mientras que el 4-pregnano 3 β -hidroxio-4-pregnen-20-ona lo inhibe¹⁰².

En el seno y otros tejidos, E₂ y E₁ son transformados en derivados hidroxilados: el metabolito 2-hidroxi es considerado como un agente anti-proliferativo mientras que el 4-hidroxi es una sustancia carcinogénica¹⁰³⁻¹⁰⁶. La Figura 3 resume estas transformaciones metabólicas en el cáncer de seno.

En conclusión, ya que los hallazgos con referencia a la TRH y la incidencia de cáncer de seno son contradictorios, se requiere mayor información sobre nuevas rutas de administración y nuevos regímenes (dosis y período de administración) de manera tal que se pueda evaluar el impacto de la TRH sobre el riesgo y la mortalidad por cáncer de seno.

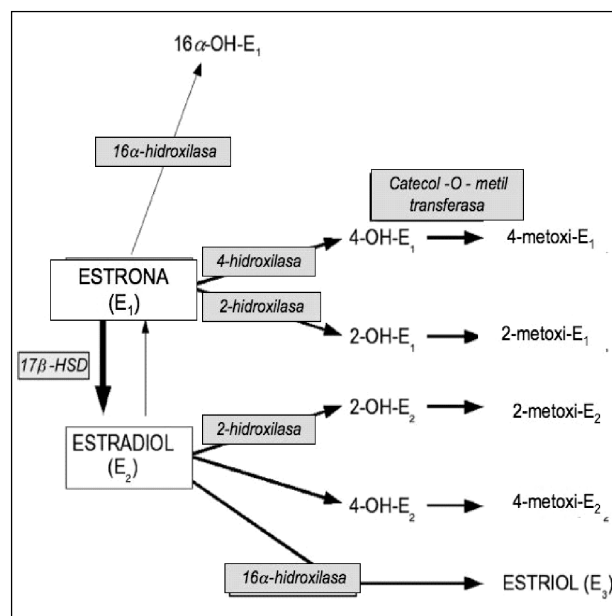


Figura 3. Vías hidroxilo de los estrógenos en el cáncer de seno humano (2-OH-E_α, 2-hidroxiestrona; 2-OH-E_α, 2-hidroxiestradio; 4-OH-E_α, 4-hidroxiestrona; 4-OH-E_α, 4-hidroxiestradio; 16α-OH-E₁, 16α-hidroxiestrona; 17β-HSD, 17β-hidroxiesteroide deshidrogenasa).

Referencias

1. Schindler AE, Campagnoli C, Druckmann R, Huber J, Pasqualini JR, Schweppe H-W, Thijssen JHH. Progestins: present and future. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1996; 59: 357-363.

2. Pasqualini JR, Paris J, Sitruk-Ware R, Chetrite G, Botella J. Progestins and breast cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1998; 65: 225-235.
3. Rozenbaum H. *Les progestatifs*. Paris: ESKA; 2002.
4. Sitruk-Ware R, Michelle R, editors. *Progestins and antiprogestins in clinical practice*. New York: Marcel Decker; 2000.
5. De Lignie's B, Dennerstein L, Backstrom T. Influence of route of administration on progesterone metabolism. *Maturitas* 1995; 21: 251-257.
6. Neumann F, Duesterberg D. Entwicklung auf dem Gebiet der Gestagen. *Reproduktionsmedizin* 1998; 14: 257-264.
7. Kuhl H. Pharmacology of progestins. Basic aspects - progesterone derivatives. *Menopause Rev* 2001; VI: 9-16.
8. Kirschner MA. The role of hormones in the development of human breast cancer. In: McGuire WL, editor. *Current topics: Breast cancer*. Vol. 3, Advances in research and treatment. New York: Plenum; 1979. pp 199-226.
9. Lippman ME, Dickson RB, Bates S, Knabbe K, Huff S, Swain Y, McManaway M, Bronzert D, Kasid A, Gelmann EP. Auto and paracrine growth regulation of human breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 1986; 7: 59-70.
10. Henderson BE, Ross R, Bernstein L. Estrogens as a cause of human cancer: the Richard and Hinda Rosenthal Foundation Award Lecture. *Cancer Res* 1988; 48: 246-253.
11. Raam S, Robert N, Pappas CA, Tamura H. Defective estrogen receptors in human mammary cancers: their significance in defining hormone dependence. *J Natl Cancer Inst* 1988; 80: 756-761.
12. Fuqua SAW, Fitzgerald SD, Chamness GC, Tandon AK, McDonnell DP, Nawaz Z, O'Malley BW, McGuire WL. Variant human breast tumor estrogen receptor with constitutive transcriptional activity. *Cancer Res* 1991; 51: 105-109.
13. McGuire WL, Chamness GC, Fuqua SAW. Abnormal estrogen receptor in clinical breast cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1992; 43: 243-247.
14. Castles CG, Fuqua SAW, Klotz DM, Hill SM. Expression of a constitutively active estrogen

- receptor variant in the estrogen receptor-negative BT-20 human breast cancer cell line. *Cancer Res* 1993; 53: 5934-5939.
15. Edwards DP, Chamness GC, McGuire WL. Estrogen and progesterone receptors in breast cancer. *Biochem Biophys Acta* 1979; 560: 457-486.
 16. Litherland JS, Jackson IM. Antiestrogens in the management of hormone-dependent cancer. *Cancer Treat Rev* 1988; 15: 183-194.
 17. Russo J, Russo IH. Mechanism involved in carcinogenesis of breast. In: Pasqualini JR, editor. *Breast cancer prognosis, treatment and prevention*. New York, Basel: Marcel Dekker Inc.; 2002. pp 1-18.
 18. Bove BA, Dunbrack RL Jr, Godwin AK. BRCA1, BRCA2, and hereditary breast cancer. In: Pasqualini JR, editor. *Breast cancer prognosis, treatment and prevention*. New York, Basel: Marcel Dekker Inc.; 2002. pp 555-624.
 19. Lage JM, Leamon JH, Pejovic T, Hamann S, Lacey M, Dillon D, Segraves R. Whole genome analysis of genetic alterations in small DNA samples using hyperbranched stand displacement amplification and array-CGH. *Genome Res* 2003; 13: 294-307.
 20. Emmert-Buck MR, Bonner RF, Smith PD, Chauqui RS, Zang Z, Golstein SR, Weiss RA, Liotta LA. Laser capture microdissection. *Science* 2001; 274: 998-1001.
 21. Ma XJ, Salunga R, Tuggle JT, Gaudet J, Enright E, McQuary P, Payette T, Pistone M, Stecker K, Zhang BM, et al. Gene expression profiles of human breast cancer progression. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100: 5974-5979.
 22. Pasqualini JR, Kincl F. *Hormones and the fetus*. Vol. I. Oxford: Pergamon; 1985. pp 173-334.
 23. Hawkins RA, Oakey RE. Estimation of oestrone sulphate, oestradiol-17 β and oestrone in peripheral plasma: concentrations during the menstrual cycle and in man. *J Endocrinol* 1974; 60: 1-17.
 24. Roberts KD, Rochefort JG, Bleau G, Chapdelaine A. Plasma estrone sulfate levels in postmenopausal women. *Steroids* 1980; 35: 179-187.
 25. Pasqualini JR, Chetrite G, Blacker C, Feinstein M-C, Delalonde L, Talbi M, Maloche C. Concentrations of estrone, estradiol, and estrone sulfate and evaluation of sulfatase and aromatase activities in pre- and postmenopausal breast cancer. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 1460-1464.
 26. Chetrite G, Cortes-Prieto J, Philippe JC, Wright F, Pasqualini JR. Comparison of estrogen concentrations, estrone sulfatase and aromatase activities in normal, and in cancerous, human breast tissues. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2000; 72: 23-27.
 27. van Landeghem AAJ, Poortman J, Nabuurs M, Thijssen JHH. Endogenous concentration and subcellular distribution of estrogens in normal and malignant human breast tissue. *Cancer Res* 1985; 45: 2900-2906.
 28. Pasqualini JR, Chetrite G, Nguyen B-L, Blacker C, Feinstein M-C, Maloche C, Talbi M, Delalonde L. Control of estrone sulfatase activity and its expression in human breast cancer. In: Motta M, Serio M, editors. *International Congress Series. Vol. 1064, Sex hormones and antihormones in endocrine dependent pathology: Basic and clinical aspects*. Amsterdam: Excerpta Medica; 1994. pp 257-265.
 29. Reed MJ, Cheng RW, Noel CT, Dudley HAF, James VHT. Plasma levels of estrone, estrone sulfate, and estradiol and the percentage of unbound estradiol in postmenopausal women with and without breast disease. *Cancer Res* 1983; 43: 3940-3943.
 30. Vermeulen A, Deslypere JP, Paridaens R, Leclercq G, Roy F, Heuson JC. Aromatase, 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase and intratissular sex hormone concentrations in cancerous and normal glandular breast tissue in postmenopausal women. *Eur J Cancer Clin Oncol* 1986; 22: 515-525.
 31. Thijssen JHH, Blankenstein MA. Endogenous oestrogens and androgens in normal and malignant endometrial and mammary tissues. *Eur J Cancer Clin Oncol* 1989; 25: 1953-1959.
 32. Recchione C, Venturelli E, Manzari A, Cavalleeri A, Martinetti A, Sereeto G. Testosterone, dihydrotestosterone and oestradiol levels in postmenopausal breast cancer tissues. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1995; 52: 541-546.
 33. Abul-Hajj J, Iverson R, Kiang DT. Aromatization of androgens by human breast cancer. *Steroids* 1979; 33: 205-222.

34. Lipton A, Santner SJ, Santen RJ, Harvey HA, Feil PD, White-Hershey D, Bartholomew MJ, Antle CE. Aromatase activity in primary and metastatic human breast cancer. *Cancer* 1987; 59: 779-782.
35. Bhatnagar AS, Batzl C, Häusler A, Schielweck K, Lang M, Trunet PF. Pharmacology of nonsteroidal aromatase inhibitors. In: Katznellenbogen JR, Katznellenbogen BS, editors. *Hormone-dependent cancer*. New York: Marcel Dekker; 1996. pp. 115-168.
36. Dao TL, Hayes C, Libby PR. Steroid sulfatase activities in human breast tumors. *Proc Soc Exp Biol Med* 1974; 146: 381-384.
37. Vignon JF, Terqui M, Westley B, Derocq D, Rochefort H. Effects of plasma estrogen sulfates in mammary cancer cells. *Endocrinology* 1980; 106: 1079-1086.
38. Pasqualini JR, Gelly C, Lecerf F. Estrogen sulfates: biological and ultrastructural responses and metabolism in MCF-7 human breast cancer cells. *Breast Cancer Res Treat* 1986; 8: 233-240.
39. MacIndoe JR, with the technical assistance of Woods G, Jeffries L, Hinkhouse M. The hydrolysis of estrone sulfate and dehydroepiandrosterone sulfate by MCF-7 human breast cancer cells. *Endocrinology* 1988; 123: 1281-1288.
40. Pasqualini JR, Gelly C, Nguyen B-L, Vella C. Importance of estrogen sulfates in breast cancer. *J Steroid Biochem* 1989; 34: 155-163.
41. Bonney RC, Reed MJ, Davidson K, Beranek PA, James VHT. The relationship between 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase activity and oestrogen concentrations in human breast tumours and in normal breast tissue. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1983; 19: 727-739.
42. Nguyen BL, Chetrite GS, Pasqualini JR. Transformation of estrone and estradiol in hormone-dependent and hormone-independent human breast cancer cells. Effects of the antiestrogen ICI 164,384, danazol, and promegestone (R-5020). *Breast Cancer Res Treat* 1995; 34: 139-146.
43. Santner SJ, Feil PD, Santen RJ. In situ estrogen production via the estrone sulfatase pathway in breast tumors: relative importance versus the aromatase pathway. *J Clin Endocrinol Metab* 1984; 59: 9-33.
44. Pasqualini JR. Steroid sulphotransferase activity in human hormone-independent MDA-MB-468 mammary cancer cells. *Eur J Cancer* 1992; 28A: 758-762.
45. Falany JL, Falany CN. Expression of cytosolic sulfotransferases in normal mammary epithelial cells and breast cancer cell lines. *Cancer Res* 1996; 56: 1551-1555.
46. Wilking N, Carlström K, Gustafsson SA, Skodelfors H, Tollborn O. Oestrogen receptors and metabolism of oestrone sulfate in human mammary carcinoma. *Eur J Cancer* 1980; 16: 1339-1344.
47. Evans TRJ, Rowlands MG, Law M, Coombes R. Intratumoral oestrone sulphatase activity as a prognostic marker in human breast carcinoma. *Br J Cancer* 1994; 69: 555-561.
48. Pasqualini JR, Chetrite G, Le Nestour E. Control and expression of oestrone sulphatase activities in human breast cancer. *J Endocrinol* 1996; 150: S99-S105.
49. Pasqualini JR, Schatz B, Varin C, Nguyen B-L. Recent data on estrogen sulfatase and sulfotransferase activities in human breast cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1992; 41: 323-329.
50. Pasqualini JR, Nguyen B-L. Estrone sulfatase activity and effect of antiestrogens on the transformation of estrone sulfate in hormone-dependent vs -independent human breast cancer cells lines. *Breast Cancer Res Treat* 1991; 18: 93-98.
51. Prost-Avallet O, Oursin J, Adessi GL. In vitro effect of synthetic progestogens on estrone sulfatase activity in human breast carcinoma. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1991; 39: 967-973.
52. Santner SJ, Santen RJ. Inhibition of estrone sulfatase and 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase by antiestrogens. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1993; 45: 383-390.
53. Pasqualini JR, Ebert C, Chetrite G. Control of estradiol in human breast cancer. Effect of medrogestone on sulfatase, 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase and sulfotransferase activities in human breast cancer cells. In: *Proceedings of the IV European Congress on Menopause*. Paris, France: Editions ESKA; 1998. pp 625-633.
54. Pasqualini JR, Varin C, Nguyen B-L. Effect of the progestagen R-5020 (promegestone) and

- of progesterone on the uptake and on the transformation of estrone sulfate in the MCF-7 and T-47D human mammary cancer cells: correlation with progesterone receptor levels. *Cancer Lett* 1992; 66: 55-60.
55. Chetrite G, Paris J, Botella J, Pasqualini JR. Effect of nomegestrol acetate on estrone-sulfatase and 17 β hydroxysteroid dehydrogenase activities in human breast cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1996; 58: 525-531.
 56. Nguyen B-L, Ferme I, Chetrite G, Pasqualini JR. Action of danazol on the conversion of estrone sulfate to estradiol and on the sulfatase activity in the MCF-7, T-47D and MDAMB-231 human mammary cancer cells. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1993; 46: 17-23.
 57. Carlström K, Doberl A, Pousette A, Rannevik G, Wilking N. Inhibition of steroid sulfatase activity by danazol. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1984; 123: 107-111.
 58. Evans TRJ, Rowlands MG, Jarman M, Coombes RC. Inhibition of estrone sulfatase enzyme in human placenta and human breast carcinoma. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1991; 39: 493-499.
 59. Chetrite G, Kloosterboer HJ, Pasqualini JR. Effect of tibolone (Org ODI4) and its metabolites on estrone sulphatase activity in MCF-7 and T-47D mammary cancer cells. *Anticancer Res* 1997; 17: 135-140.
 60. Chetrite G, Varin C, Delalonde L, Pasqualini JR. Effect of promegestone, tamoxifen, 4-hydroxytamoxifen and ICI 164,384 on the oestrone sulphatase activity of human breast cancer cells. *Anticancer Res* 1993; 13: 931-934.
 61. Pasqualini JR, Maloche C, Maroni M, Chetrite G. Effect of the progestagen promegestone (R-5020) on mRNA of the oestrone sulphatase in the MCF-7 human mammary cancer cells. *Anticancer Res* 1994; 14: 1589-1594.
 62. Chetrite GS, Thole HH, Philippe J-C, Pasqualini JR. Dihydrogesterone (Duphaston1) and its 20-dihydro-derivative as selective estrogen enzyme modulators in human breast cancer cell lines. Effect on sulfatase and on 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase (17 β -HSD) activity. *Anticancer Res* 2004; 24: 1433-1438.
 63. Chetrite G, Ebert C, Wright F, Philippe J-C, Pasqualini JR. Control of sulfatase and sulfotransferase activities by medrogestone in the hormone-dependent MCF-7 and T-47D human breast cancer cell. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1999; 70: 39-45.
 64. Pasqualini JR, Caubel P, Friedman AJ, Philippe J-C, Chetrite GS. Norelgestromin as selective estrogen enzyme modulator in human breast cancer cell lines. Effect on sulfatase activity in comparison to medroxyprogesterone acetate. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2003; 84: 193-198.
 65. Pasqualini JR, Chetrite GS. Paradoxical effect of estradiol: it can block its own bioformation in human breast cancer cells. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2001; 78: 21-24.
 66. Chetrite G, Thomas JL, Shields-Botella J, Cortes-Prieto J, Philippe J-C, Pasqualini JR. Control of sulfatase activity by nomegestrol acetate in the normal and cancerous human breast tissues. *Anticancer Res* 2005; 25: 2827-2830.
 67. Miyoshi Y, Ando A, Hasegawa S, Ishitobi M, Taguchi T, Tamaki Y, Noguchi S. High expression of steroid sulfatase mRNA predicts poor prognosis in patients with estrogen receptor-positive breast cancer. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 2288-2293.
 68. Prudhomme JF, Malet C, Gompel A, Lalandie JP, Ochoa C, Boue A, Mauvais-Jarvis P, Kuttann F. 17 β -Hydroxysteroid dehydrogenase activity in human breast epithelial cells and fibroblast cultures. *Endocrinology* 1984; 114: 1483-1489.
 69. Gompel A, Malet C, Spritzer P, Lalandie JP, Kuttann F, Mauvais-Jarvis P. Progestin effect on cell proliferation and 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase activity in normal human breast cells in culture. *J Clin Endocrinol Metab* 1986; 63: 1174-1180.
 70. Poutanen M, Monchamont B, Vihko R. 17 β -Hydroxysteroid dehydrogenase gene expression in human breast cancer cells: regulation of expression by a progestin. *Cancer Res* 1992; 52: 290-294.
 71. Peltoketo H, Isomaa VV, Poutanen MH, Vihko R. Expresión and regulation of 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1. *J Endocrinol* 1996; 150: S21-S30.
 72. Coldham NJ, James VHT. A possible mechanism for increased breast cell proliferation by progestins through increased reductive 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase activity. *Int J Cancer* 1990; 45: 174-178.

73. Couture P, Theriault C, Simard J, Labrie F. Androgen receptor-mediated stimulation of 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase activity by dihydrotestosterone and medroxyprogesterone acetate in ZR-75-1 human breast cancer cells. *Endocrinology* 1993; 132: 179-185.
74. Adams EF, Coldham NO, James VHT. Steroidal regulation of oestradiol-17 β -dehydrogenase activity of the human breast cancer cell line MCF-7. *J Endocrinol* 1988; 118: 149-154.
75. McNeill JM, Reed MJ, Beranek PA, Newton CJ, Ghilchik MW, James VHT. The effect of epidermal growth factor, transforming growth factor and breast tumor homogenates on the activity of oestradiol 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase in cultured adipose tissue. *Cancer Lett* 1986; 31: 213-219.
76. Malet C, Vacca A, Kuttann F, Mauvais-Jarvis P. 17 β -Estradiol dehydrogenase (E2DH) activity in T47D cells. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1991; 39: 769-775.
77. Chetrite GS, Kloosterboer HJ, Philippe J-C, Pasqualini JR. Effect of Org OD14 (Livial) and its metabolites on human estrogen sulphotransferase activity in the hormone-dependent MCF-7 and T47D, and the hormone-independent MDA-MB-231, breast cancer cells lines. *Anticancer Res* 1999; 19: 269-276.
78. Chetrite G, Le Nestour E, Pasqualini JR. Human estrogen sulfotransferase (hEST1) activities and its mRNA in various breast cancer cell lines. Effect of the progestin, promegestone (R-5020). *J Steroid Biochem Mol Biol* 1998; 66: 295-302.
79. Chetrite GS, Ebert F, Wright F, Philippe J-C, Pasqualini JR. Control of sulfatase and sulfotransferase activities by medroxyprogesterone in the hormone-dependent MCF-7 and T-47D human breast cancer cells. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1999; 70: 39-45.
80. Chetrite GS, Paris J, Shields-Botella J, Philippe J-C, Pasqualini JR. Effect of norgestrel acetate on human estrogen sulfotransferase activity in the hormone-dependent MCF-7 and T-47D breast cancer cell lines. *Anticancer Res* 2003; 23: 4651-4656.
81. Chetrite GS, Pasqualini JR. The selective estrogen enzyme modulator (SEEM) in breast cancer. *Oncol Res* 1997; 9: 589-596.
82. Pasqualini JR. Selective estrogen enzyme modulators in breast cancer: a review. *Biochem Biophys Acta* 2004; 1654: 123-143.
83. Pasqualini JR, Chetrite GS. Correlation of the estrogen sulfotransferase activity and proliferation in normal and carcinomas human breast. An hypothesis. *Anticancer Res* 2007; in press.
84. Falany JL, Macrina N, Falany CN. Regulation of MCF-7 breast cancer cell growth by 17 β -estradiol sulfation. *Breast Cancer Res Treat* 2002; 74: 167-176.
85. Perel E, Daniilescu D, Kharlip L, Blankenstein M, Killenger DW. Steroid modulation of aromatase activity in human cultured breast carcinoma cells. *J Steroid Biochem* 1988; 29: 393-399.
86. Chetrite GS, Shields-Botella J, Pasqualini JR. Effect of norgestrel acetate on aromatase activity in MCF-7 aro breast cancer cells. *Breast Cancer Res Treat* 2005; 94(Suppl 1): 205 (abstr 4113).
87. Harris AL, Mitchell MD, Smith IE, Powles TJ. Aminoglutethimide in the treatment of advanced postmenopausal breast cancer. *Cancer Res* 1982; 42: 3405-3408.
88. Combes RC, Coos PE, Dowsett M, Hutchinson G, Cunningham D, Jarman M, Brodie AMH. 4-Hydroxyandrostenedione treatment for postmenopausal patients with advanced breast cancer. *Steroids* 1987; 50: 245-252.
89. de Jong PC, van de Ven J, Nortier HWR, Maitimu-Smeele I, Donker TH, Thijssen JHH, Slee PHTJ, Blankenstein RA. Inhibition of breast cancer tissue aromatase activity and estrogen concentrations by the third-generation aromatase inhibitor vorozole. *Cancer Res* 1997; 57: 2109-2111.
90. Miller WR. Aromatase inhibitors. *Endocr Relat Cancer* 1996; 3: 65-79.
91. Brodie AMH. Aromatase inhibitors and their application to the treatment of breast cancer. In: Pasqualini JR, editor. *Breast cancer, prognosis, treatment and prevention*. New York: Marcel Dekker; 2002. pp 251-269.
92. Aromatase 2002. In: Brodie A, Dowsett M, Harada N, Lonning P, Miller B, Pasqualini JR, Santen R, Sasano H, Simpson E, editors.

- Proceedings of the VI International Aromatase Conference. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2003; 86: 219-507.
93. Aromatase 2004. In: Miller WR, Paqualini JR, editors. Proceedings of the VI International Aromatase Conference, Edinburgh, Scotland, UK 6-8 September 2004. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2005; 95: 1-187.
 94. Million Women Collaborators. Breast cancer and hormone replacement therapy in the Million Women Study. *Lancet* 2003; 362: 419-427.
 95. Beral V. Breast cancer and hormone-replacement therapy in the Million Women Study. *Lancet* 2003; 362: 419-427.
 96. Rossouw JE, Anderson GL, Prentice RL, LaCroix AZ, Kooperberg C, Stefanick ML, Jackson RD, Beresford SA, Howard BH, Johnson KC, et al. Writing Group for the Women's Health Initiative Investigators. Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results from the Women's Health Initiative randomized controlled trial. *J Am Med Assoc* 2002; 288: 321-333.
 97. Saeki T, Takashima S, Takeuchi M, Sano M, Honjo H, Sonoo H, Ochiai K, Komoike K, Kobayashi T, Sawai K, et al. Hormone replacement therapy (HRT) may not increase the incidence of breast cancer in Japan. *Breast Cancer Treat* 2005; 94(Suppl 1): 159 (abstr 3099).
 98. Shapiro S. Comments: The Million Women Study: potential biases do not allow uncritical acceptance of the data. *Climacteric* 2004; 7: 415-416.
 99. Delgado RC, Lubian Lopez DM. Prognosis of breast cancers detected in women receiving hormone replacement therapy. *Maturitas* 2001; 38: 147-156.
 100. Li CI, Weiss NS, Stanford JL, Dating JR. Hormone replacement therapy in relation to risk of lobular and ductal breast carcinoma in middle-aged women. *Cancer* 2000; 88: 2570-2577.
 101. Heikkinen J. Hormone therapy: maximizing the benefits. *Gynecol Endocrinol* 2006; 22: 160-162.
 102. Wiebe JP, Lewis MJ, Cialacu V, Pawlak KJ, Zhang G. The role of progesterone metabolites in breast cancer: potential for new diagnostics and therapeutics. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2005; 93: 201-208.
 103. Zhu BT, Conney AH. Is 2-methoxyestradiol an endogenous estrogen metabolite that inhibits mammary carcinogenesis? *Cancer Res* 1998; 58: 2269-2277.
 104. Mueck AO, Seeger H, Lippert TH. Estradiol metabolism and malignant disease. *Maturitas* 2002; 43: 1-10.
 105. Lippert C, Seeger H, Mueck AO. The effect of endogenous estradiol metabolites on the proliferation of human breast cancer cells. *Life Sci* 2003; 72: 877-883.
 106. Schütze N, Vollmer G, Tiemann I, Geiger M, Knuppen R. Catecholestrogens are MCF-7 cell estrogen receptor agonists. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1993; 46: 781-789.