




**Rol de los Metabolitos de los Estrógenos en el Cáncer de Mama**

**Andrés CALLE M.**  
Quito, Ecuador

acalle@uij.satnet.net

1




## Introducción

**EVIDENCIA EPIDEMIOLOGICA**

- Los principales factores de riesgo asociados al cáncer de mama se vinculan a la mayor exposición a ciclos ovulatorios: menarquia temprana y menopausia tardía, esterilidad, nuliparidad y lactancia escasa o nula.<sup>(1)</sup>

1. Hulka BS, Stark AT. Breast cancer: cause and prevention. Lancet 1995; 346(8979): 883-7.


2



- Pacientes con ooforectomía precoz o en tratamiento con efecto antiestrógeno (tamoxifeno) presentan una reducción del riesgo de cáncer.
- Este efecto se observa en las pacientes con anovulación vinculada al ejercicio y con anovulación de origen hipotalámico.<sup>(1-4)</sup>

1. Hulka BS, Stark AT. Breast cancer: cause and prevention. Lancet 1995; 346(8979): 883-7.  
2. Kreiger N, Sloan M, Cotterchis M, Kirch V. The risk of breast cancer following reproductive surgery. Eur J Cancer 1999; 35: 97-101.  
3. Bernstein L, Henderson BE, Hanisch R, Sullivan-Halley J, Ross RK. Physical exercise and reduced risk of breast cancer in young women. J Natl Cancer Inst 1994; 86(18): 1403-8.  
4. Thune J, Brenn T, Lund E, Gaard M. Physical activity and the risk of breast cancer. N Engl J Med 1997; 336(18):1269-75.

3



- Estudios experimentales (células) concluyen que los estrógenos promueven el crecimiento de tumores mamarios en animales e incrementan la proliferación de células cancerosas humanas *in vitro*.<sup>(5,6)</sup>
- Además: existe correlación del desarrollo del cáncer de mama con niveles elevados de estrógenos sanguíneos.<sup>(7)</sup>

5. International Agency for Research on Cancer. Sex hormones (II). In: IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. 1976 Vol 21. Lyon, France. Last updated: 6 April 1998. Obtenido de: <http://monographs.iarc.fr/htdocs/indexes/vol21/index.html>. Fecha acceso: septiembre de 2004.  
6. Clemons M, Goss P. Estrogen and the risk of breast cancer. N Engl J Med 2001; 344(23): 276-85.  
7. Thomas HV, Reeves GK, Key TJ. Endogenous estrogen and postmenopausal breast cancer: a quantitative review. Cancer Causes Control 1997; 8: 922-8.

4



**Fig 2: Citocromo P-450<sub>1A1</sub>**

- La familia del citocromo P450 (CYP) es un grupo grande y diverso de enzimas, localizados en la membrana interna de mitocondrias o en el retículo endoplásmico.<sup>(11)</sup>
- Función:** catalizar oxidación de sustancias orgánicas.
- Sustratos:** intermediarios metabólicos, tales como lípidos, hormonas esteroides, así como sustancias xenobióticas como drogas.

11. Martin D, Mayes P, Rodwell V. Bioquímica de Harper. Ed. El Manual Moderno, 2008.

9

## Catabolismo de Estrógenos

17 B estradiol  $\xrightleftharpoons{17 \text{ beta oxido reductasa (12,13)}}$  Estrona

↓

Hidroxilación: C16<sub>alfa</sub>, C2 o C4

12. Zhu B, Bui Q, et.al. Conversion of estrone to 2 and 4 hydroxiestrone by hamster kidney and liver microsomes: implications for the mechanism of estrogen induced carcinogenesis. *Endocrinol*, 1994; 135:1772-1779

13. Ashburn S, Han X, Liehr J. Microsomal hydroxilation of 2 and 4 fluoroestradiol to catechol metabolites and conversion to methyl ethers: catechol estrogens as possible mediators of hormonal carcinogenesis. *Mol Pharmacol*, 1993; 43:534-541

10

## Que carbono se hidroxila?

■ Diferentes tejidos:  
diferentes isoformas de CYP

**Células Cancerosas Mama: MCF-7**

**HIDROXILACIONES<sup>(14,15)</sup>**

CYP1A1: C2, C15<sub>alfa</sub> y C16 alfa

CYP1A2: C2

CYP 1B: C4

CYP 3A4: C16

CYP 3A5: C16

14. Hu YF, Russo H, Russo J. Estrogen and Human Breast Cancer. En: *Endocrine Disruptors*. Ed Mazzoir. Heidelberg, 2001. p-126

15. Knuppen R, Ball R, Emons G. Importance of aring substitution of estrogens for the physiology and pharmacology of reproduction. *J Steroid Biochem*, 1986; 24:193-198

11

## Estrogens, Enzyme Variants, and Breast Cancer: A Risk Model

Philip S. Crooke,<sup>1</sup> Marylyn D. Ritchie,<sup>2</sup> David L. Hachey,<sup>3</sup> Sheila Dawling,<sup>4</sup> Nady Roodi,<sup>4</sup> and Fritz F. Parf<sup>4</sup> **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**, 2006; 15(9):1620-1629  
 Departments of Mathematics, Molecular Physiology and Biophysics (Center for Human Genetics Research), Pharmacology, and Pathology, Vanderbilt University, Nashville, Tennessee

12

**Hidroxilaciones no "buenas"**

- El aumento en la formación de estrógenos catecol como resultados de las hidroxilaciones elevadas de 17βE2 a posiciones C4 y C16, ocurre en paciente con Ca de Mama y en mujeres con alto riesgo de desarrollar esta patología.<sup>(14,16)</sup>

14. Hu YF, Russo H, Russo J. Estrogen and Human Breast Cancer. En: Endocrine Disruptors. Ed Mazzoli. Heidelberg, 2001. p-126

16. Sipe H, Jordan S, et.al. The metabolism of 17 beta estradiol by lactoperoxidase: a possible source of oxidative stress in breast cancer. *Carcinogenesis*, 1994; 15:2637-2643

13

**Interesante ...**

- Existe evidencia que la lactoperoxidasa (leche, saliva, lágrimas y glándulas mamarias) cataliza el metabolismo de 17βE2 a radicales Fenoxilo, que lleva a la formación de superóxido y peróxido de Hidrógeno, que podría estar involucrado en el esfuerzo oxidativo mediado por estrógeno.<sup>(17)</sup>

17. Malins D, Holmes E, et.al. The etiology of breast cancer. Characteristic alteration in hydroxyl radical – induced DNA base lesions during oncogenesis wint potential for evaluating risk. *Cancer*, 1993; 71:3036-3043

14

**Estrógenos hidroxilados?**

- Son los estrógenos catecol que se oxidarán en forma automática a semiquinonas y luego a quinonas.

Estas cetonas son electrófilos capaces de efectuar enlaces covalentes con grupos nucleófilos de ADN (vía Michael) y por lo tanto servirán como los últimos intermedios reactivos carcinogénicos en la activación peroxidativa de los estrógenos catecol.

15


Published in final edited form as:  
*Chem Res Toxicol*. 2008 January ; 21(1): 93–101. doi:10.1021/xr700191p.

**Potential Mechanisms of Estrogen Quinone Carcinogenesis**

Judy L. Bolton\* and Gregory R.J. Thatcher  
Department of Medicinal Chemistry and Pharmacognosy (M/C 781), College of Pharmacy,  
University of Illinois at Chicago, 833 S. Wood Street, Chicago, Illinois, 60612-7231

Scheme 2. Metabolism of estradiol to quinoids. Circled quinoids represent the major isomers that react with DNA. Estrone is also metabolized to the corresponding catechols/quinoids.

16




## Metabolitos

E2 carcinogénico por sus metabolitos:<sup>(8)</sup>

- 2 OH estradiol
- 4 OH estradiol
- 16 OH estradiol
- Inducir la transformación neoplásica de las células epiteliales (*in vitro*: benzopireno)

8. Russo J, Russo I. The role of estrogen in the initiation of breast cancer. *J Steroid Bioche Mol Biol*, 2006; 102:89-96

17




## Otros mecanismos: E2 metabolitos<sup>(8)</sup>

- Induce la expresión del crecimiento de anclaje independientes.
- Pérdida de ductulogenesis en el colágeno
- Altera capacidad de invasión
- Se asocia con pérdida de 9p11-13 y sólo las células invasoras que presentaron una deleción 4p15.3-16: tumorigénico.

8. Russo J, Russo I. The role of estrogen in the initiation of breast cancer. *J Steroid Bioche Mol Biol*, 2006; 102:89-96

18




## Alteración cromosómica

- Los tumores inducidos y E2 tumor derivado de líneas celulares demostraron pérdida del cromosoma 4, eliminaciones en los cromosomas 3p12.3-13, 8p11.1-21, 9p21 y 18q, y las ganancias en 1p y 5q15.<sup>(8)</sup>

8. Russo J, Russo I. The role of estrogen in the initiation of breast cancer. *J Steroid Bioche Mol Biol*, 2006; 102:89-96

19



## Crecimiento celular y mutación

- Estrógenos: estimulan división celular y cuanto más se divida una célula, mayor posibilidad que se exprese una mutación oncogénica o que se desarrolle una nueva.<sup>(14)</sup>
- Sin embargo, se ha demostrado que los estrógenos son también genotóxicos.<sup>(19)</sup>

14. Fishman J, Osborne MP, Telang NT. The role of estrogen in mammary carcinogenesis. *Ann NY Acad Sci* 1995; 768:91-100.  
19. Liehr JG. Genotoxicity of the steroidal oestrogens oestrone and oestradiol: possible mechanism of uterine and mammary cancer development. *Hum Reprod Update* 2001; 7(3): 273-81.

20

**ENTONCES ...**

- Estudio de los metabolitos de los estrógenos: **debe** determinar su papel en el cáncer.

**Muy interesante:**

- 2 alfa hidroxy derivados tienen acciones biológicas opuestas a los 16 alfa hidroxy derivados.
- 2 alfa hidroxy derivados:** inhibidores de la proliferación celular con acción antiestrogénica *in vivo*<sup>(20)</sup> - pierden potencia estrogénica.
- 16 alfa hidroxy derivados:** estimulan mitosis - presentan efectos genotóxicos directos sobre las células blanco.<sup>(21)</sup>

20. Bradlow HL. Nutrient modulation of female hormone metabolism: Modifying breast cancer risk. In: Functional Medicine Approaches to Endocrine Disturbances of Aging. Vancouver: British Columbia: Institute of Functional Medicine Proceedings, 2001; 100-14.  
21. Kabat GC, Chang C, Sparano JA, Sepkovic DW, Hu XP, Khalil A, et al. Urinary estrogen metabolites and breast cancer: a case-control study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1997; 6(7): 505-9.

21

**Se ha probado ...**

- In vitro*: confirma E2 y metabolitos pueden iniciar **CAMBIOS GENOMICOS**, que conduce a producir Ca de mama.<sup>(8)</sup>

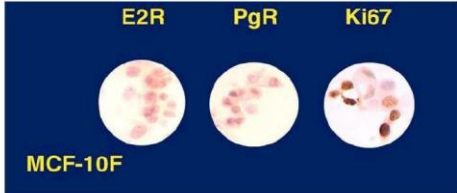
8. Russo J, Russo I. The role of estrogen in the initiation of breast cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2006; 102:89-96

22

Published in final edited form as:  
*J Steroid Biochem Mol Biol*. 2006 December ; 102(1-5): 89-96.

**THE ROLE OF ESTROGEN IN THE INITIATION OF BREAST CANCER**

J. Russo<sup>(1)</sup> and Irma H. Russo  
Breast Cancer Research Laboratory, Fox Chase Cancer Center, Philadelphia, PA 19111, USA



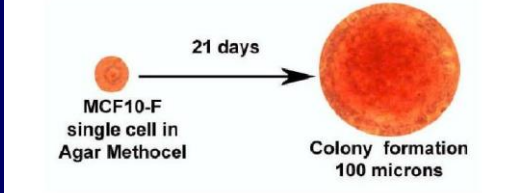
**Figure 1.** MCF-10F cells are proliferating cells (Ki67 positive), E<sub>2</sub>R (estrogen receptor) and PgR (progesterone receptor) negative.

23

Published in final edited form as:  
*J Steroid Biochem Mol Biol*. 2006 December ; 102(1-5): 89-96.

**THE ROLE OF ESTROGEN IN THE INITIATION OF BREAST CANCER**

J. Russo<sup>(1)</sup> and Irma H. Russo  
Breast Cancer Research Laboratory, Fox Chase Cancer Center, Philadelphia, PA 19111, USA



**Figure 2.** Anchorage independent growth is only observed in MCF-10F cells transformed with estradiol forming colonies of 100 microns in diameter.

24

## Estrógenos: agentes mutagénicos

- Varios tipos de lesiones del ADN provocados por los metabolitos de los Estrógenos (células de cultivo y en "in vivo")
- Función adicional del estrógenos como mutagénico e iniciador del tumor.(22-24)

22. Liehr J. Genotoxic of estrogens: a role in cancer development). Human Reprod Update, 2001; 1-9  
 23. Rajah T, Pentto J. The mutagenic potential of antiestrogens at the HPRT locus in V79 cells. Res Comm Molec Pathol & Pharmacol, 1995; 89(1):85-92  
 24. Kong L, Szanislo P, et.al. Frequency and molecular analysis of HPRT mutations induced by estradiol in Chinese hamster v79 cells. Int J Oncol, 2000; 17:1141-1149

25

## Mecanismos mutagénicos (1)

Enlace covalente

CARCINOGENOS QUIMICOS → ADN

ESTABLES: permanecen con el ADN  
 DEPURANTES: se pierden del ADN (25,26)

Enlaces de ADN con hidrocarburos aromáticos policíclicos depurantes cumplen función importante en inicio de tumores.(25-27)

Igualmente, los metabolitos del Estrógeno de los enlaces de ADN depurante son iniciadores endógenos del Cancer.(28)

25. Cavaliere L, Rogan E. The approach to understanding aromatic hydrocarbon carcinogenesis. The central role of radical actions in metabolic activation. Pharmacol Ther, 1992; 55:183-189  
 26. Cavaliere L, Rogan E. Mechanisms of tumor initiation by polycyclic aromatic hydrocarbons in mammals. En: The Handbook of Environmental Chemistry, Neilson Ed, 1998, pp81-117  
 27. Chakravarti D, Pelling J, et.al. Relating aromatic hydrocarbon – induced DNA adducts and c-Harvey-ras mutations in mouse skin papillomas: the role of apurinic sites. Prox Nat Acad Sci USA, 1995; 92:10422-10426  
 28. Li J, Li S. Estrogen carcinogenesis in hamster tissue: role of metabolism. Fed Proc, 1987; 46:1858-1863

26

## Mecanismos mutagénicos (2)

Estrógenos CATECOL → oxidación → Quinonas electrofilicas

Alductos Permanentes.(29) → Reacción con ADN

Sitios apurínicos y/o apirimidínicos, que pueden producir mutaciones oncogénicas, que inician cancer.(27,30,31)

27. Chakravarti D, Pelling J, et.al. Relating aromatic hydrocarbon – induced DNA adducts and c-Harvey-ras mutations in mouse skin papillomas: the role of apurinic sites. Prox Nat Acad Sci USA, 1995; 92:10422-10426  
 29. Li K, Devanesan P, et.al. Formation of the depurinating 4-hydroxyestradiol (4-OHE2) – 1N7gua and 4-OHE2-1N3Ade adducts by reaction of E2 3,4 quinone with DNA. Proc Am Assoc Cancer Res, 1998; 39:636  
 30. Khan S, Rogers M, et.al. Estrogen receptors expression in benign breast epithelium and breast cancer risks J Natl Cancer Invest, 1997; 89:3742  
 31. Chakravarti D, Mallander P, et.al. Detection of dibenzo pyrene – induced H-ras codon 61 mutant genes in preneoplastic SENCAR mouse skin using a new PCR-RFLP method. Oncogene, 1998; 16:3203-3210

27

## Potential Mechanisms of Estrogen Quinone Carcinogenesis

Judy L. Bolton\* and Gregory R.J. Thatcher  
 Department of Medicinal Chemistry and Pharmacognosy (M/C 781), College of Pharmacy, University of Illinois at Chicago, 833 S. Wood Street, Chicago, Illinois, 60612-7231

Published in final edited form as:  
 Chem Res Toxicol. 2008 January ; 21(1): 93–101. doi:10.1021/rn700191p.

4-OHE<sub>2</sub>-N<sup>6</sup>-ADENINE, 4-OHE<sub>2</sub>-N<sup>2</sup>-GUANINE, 2-OHE<sub>2</sub>-N<sup>6</sup>-ADENINE, 2-OHE<sub>2</sub>-N<sup>2</sup>-GUANINE

DEPURINATING ADDUCTS (From 4-OHE-Quinone), STABLE ADDUCTS (From 2-OHE-Quinone Methide)

STABLE CYCLIC ADDUCTS (From 4-OHEN-o-Quinone)

Figure 1. DNA adducts formed from estrogen quinoids

28

**Estrógenos: estimulan aneuploidías**

- Ca Mama: cambio secuenciales acumulados en tiempo.
- Pérdida de heterocigocidad y aneuploidías: primeras etapas de atipia morfológica.
- Aneuploidía: evento crítico que dirige el desarrollo y progresión neoplásica.<sup>(32,33)</sup>

**Aneuploidía: ganancia o pérdida de cromosomas. Es un evento dinámico, progresivo y acumulativo, casi universal en los tumores sólidos.<sup>(34)</sup>**

32. Visscch D, Micale M, Crissman D. Pathological and Biological relevance of cytophotometric DNA content to breast carcinoma genetic progression. J Cell Biochem Suppl, 1993; 17:114-122  
 33. Berado M, O'Connell P, Allred D. Biological characteristics of premalignant and preinvasive breast disease. Pasqualine JR, eds. NY, 1996. pp1-23  
 34. Aardema M, Crosby L, et.al. Aneuploidy and consistent structural chromosome changes associated with transformation of Syrian hamster embryo cells. Cancer Genetic Cytogenet, 1997; 96:140-150

29

**Consecuencias de la aneuploidía**

**Incapacidad de segregar cromosomas en forma apropiada.<sup>(30,35,36)</sup>**

- Interferencia con dinámicas de huso mitótico
- Duplicación de centrosomas anormales
- Condensación y cohesión de cromosomas alterados
- Centrómeros defectuosos
- Pérdida de puntos de verificación mitóticos.<sup>(36)</sup>

30. Khan S, Rogers M, et.al. Estrogen receptors expression in benign breast epithelium and breast cancer risk. J Natl Cancer Invest, 1997; 89:3742  
 35. Mendelin J, Grayson M, et.al. Analysis of chromosome aneuploidy in breast cancer progression using fluorescence in situ hybridization. Lab Invest, 1999; 79:387-393  
 36. Pihan G, Doxsey S. The mitotic machinery as a source of genetic instability in cancer. Semin Cancer Biol, 1999; 9:289-302

30

**Centrosomas: otras funciones**

**Suministran sitio enriquecido para las moléculas reguladoras:**

- Controlan la progresión del ciclo celular.
- Controlan función del centrosoma y del huso y los puntos de verificación del ciclo celular.<sup>(37-40)</sup>

37. Fukasawa K, Choi T, et.al. Abnormal centrosome amplification in the absence of p53. Science, 1996; 271:1744-1747  
 38. Pihan G, Purohit A, et.al. Centrosome defects and genetic instability in malignant tumors. Cancer Res, 1998; 58:3974-3985  
 39. Zhou H, Kuang J, et.al. Tumour amplified kinase STK15/BRAK induces centrosome amplification, aneuploidy and transformation. Nature Genetics, 1998; 20:189-193  
 40. Lingle W, Dalisbury J. Altered centrosome structure is associated with abnormal mitoses in human breast tumors. Am J Pathol, 1999; 155:1941-1951

31

**Defectos del centrosoma?**

- Pueden desempeñar función importante durante la transformación neoplásica y la progresión del tumor, **incremada la incidencia de mitosis multipolares** que conlleven anomalías en la segregación cromosómica y aneuploidía.

**Estrógeno carcinogénico: evidencia que afecta los microtúbulos<sup>(41)</sup> y un reporte adicional indica que la progesterona puede facilitar la aneuploidía.<sup>(42)</sup>**

41. Mitelman F, Levan G. Clustering of aberrations on specific chromosomes in human neoplasms. A survey of 1871 cases. Hereditas, 1981; 95:79-139  
 42. Goepfert T, McCarthy M, et.al. Progesterone facilitates chromosome instability (aneuploidy) in P53 null normal mammary epithelial cells. The FASEB J, 2000; 14:221-2229

32



**Centrosomas y Aneuploidías**

- Centrosomas: organelos que son el núcleo del crecimiento de microtúbulos y organizan el uso mitótico para segregarse cromosomas en células hijas, estableciendo la forma celular y la polaridad de la células, procesos esenciales para la organización de la células epitelial.<sup>(36,43)</sup>

36. Pihan G, Doxsey S. The mitotic machinery as a source of genetic instability in cancer. *Semin Cancer Biol*, 1999; 9:289-302

43. Lengauer C, Kinzler K, et al. Genetic instabilities in human cancers. *Nature*, 1998; 396:643-648

33

**Cáncer y centrosomas anormales**

- Alteración en controles de puntos de verificación que inician múltiples rondas de replicación de centrosomas dentro de un solo ciclo celular y fallas en la citogénesis, la fusión celular y la detención del ciclo celular en la replicación del ADN.<sup>(38)</sup>

38. Pihan G, Purohit A, et al. Centrosome defects and genetic instability in malignant tumors. *Cancer Res*, 1998; 58:3974-3985

34

**Polymorphisms in genes involved in sex hormone metabolism, estrogen plus progestin hormone therapy use, and risk of postmenopausal breast cancer**

Brenda Diegaerde<sup>1,2</sup>, John D. Potter<sup>1,2</sup>, Eldon R. Jups<sup>3</sup>, Sharmila Manjeshwar<sup>3</sup>, Craig D. Shimasaki<sup>4</sup>, Thomas W. Flegal<sup>5</sup>, Danielle C. DeFronzo<sup>6</sup>, Bobby A. Gramling<sup>7</sup>, Honka Evans<sup>1</sup>, and Emily White<sup>1,2\*</sup>

Gene	Polymorphism (SNP ID) <sup>a</sup>	Genotype	Cases N <sup>b</sup> (%)	Controls N <sup>b</sup> (%)	OR (95%CI) <sup>c</sup>
COMT	Val <sup>158</sup> /Met (rs4680)	Met/Met	31 (22.4)	148 (24.9)	1.0 (ref.)
		Met/Val or Val/Val	204 (171.6)	686 (75.1)	0.8 (0.6-1.1)
CFP1A1	His <sup>101</sup> /Val (rs1018943)	His/His	291 (19.8)	584 (92.3)	1.0 (ref.)
		His/Val or Val/Val	261 (162.2)	497 (77.7)	1.1 (0.9-1.3)
CFP1A1	Arg <sup>101</sup> /Gln (rs4646903)	T/T	238 (160.9)	495 (77.7)	1.0 (ref.)
		T/C or C/C	61 (35.1)	162 (22.3)	0.8 (0.6-1.1)
CFP1A1	Val <sup>101</sup> /Leu (rs743372)	N/A	393 (23.1)	211 (33.6)	1.0 (ref.)
		Arg/Arg or Cys/Cys	248 (147.9)	417 (66.4)	1.2 (1.0-1.4)
CFP1A1	Arg <sup>101</sup> /Cys (rs7005119)	Arg/Arg	292 (19.1)	588 (93.1)	1.0 (ref.)
		Cys/Arg or Cys/Cys	248 (147.9)	44 (6.9)	1.2 (1.0-1.4)
CFP1A1	Val <sup>101</sup> /Leu (rs0046)	C/C	73 (23.0)	163 (25.4)	1.0 (ref.)
		C/T or T/T	245 (177.0)	699 (74.6)	1.1 (1.0-1.4)
CFP1A1	Arg <sup>101</sup> /Gln (rs10012)	Arg/Arg or Cys/Leu	165 (112.4)	334 (52.4)	1.0 (ref.)
		Leu/Leu or Val/Val	120 (77.6)	309 (47.6)	1.0 (0.8-1.3)
CFP1A1	Val <sup>101</sup> /Leu (rs1036836)	Leu/Leu	194 (12.2)	222 (34.4)	1.0 (ref.)
		Leu/Val or Val/Val	142 (87.8)	222 (34.4)	1.1 (1.0-1.4)
CFP1A1	Asp <sup>101</sup> /Ser (rs1804440)	Asp/Asp	205 (14.0)	427 (66.4)	1.0 (ref.)
		Asp/Ser or Ser/Ser	122 (75.1)	216 (33.6)	1.1 (1.0-1.4)
ESR1	Val <sup>359</sup> /Val (rs2073647)	T/T	86 (26.3)	176 (27.4)	1.0 (ref.)
		T/C or C/C	244 (153.7)	407 (72.6)	1.0 (0.8-1.4)
GSTP1	His <sup>105</sup> /Val (rs1695)	His/His	141 (43.9)	230 (41.7)	1.0 (ref.)
		His/Val or Val/Val	180 (116.1)	372 (58.3)	0.9 (0.7-1.2)
UGT1A1	-33 TGA (rs1080868)	C/C	284 (191.0)	680 (90.2)	1.0 (ref.)
		C/A or A/A	241 (151.9)	76 (10.8)	1.0 (0.8-1.3)
UGT1A1	Val <sup>70</sup> /Leu (rs1042838)	Val/Val	218 (127.9)	407 (72.5)	1.0 (ref.)
		Leu/Val or Leu/Leu	151 (112.1)	177 (27.5)	1.1 (1.0-1.3)
SAB2	Val <sup>101</sup> /Leu (rs799941)	C/C	175 (44.7)	374 (58.0)	1.0 (ref.)
		C/A or A/A	145 (88.3)	271 (42.0)	1.1 (1.0-1.3)
SAB2	Asp <sup>101</sup> /Asn (rs60259)	Asp/Asp	236 (129.2)	509 (78.5)	1.0 (ref.)
		Asp/Asn or Asn/Asn	155 (90.8)	139 (21.5)	1.1 (1.0-1.4)
SECY1A1	Arg <sup>101</sup> /His (rs9282461)	Arg/Arg	158 (49.4)	300 (46.9)	1.0 (ref.)
		Arg/His or His/His	162 (106.6)	340 (53.1)	0.9 (0.7-1.2)

<sup>a</sup>dbSNP build 127, www.ncbi.nlm.nih.gov/geoquery/geoquery.cgi

<sup>b</sup>The numbers do not add up to the total number of cases and controls due to missing data on genotypes for some participants.

<sup>c</sup>Adjusted for age at baseline (<55, 55-65, >65) and race (white, other).

35

**Genetic polymorphisms in the catechol estrogen metabolism pathway and breast cancer risk**

Keryn W. Reding<sup>1,2</sup>, Noel S. Weiss<sup>1,2</sup>, Chu Chen<sup>1,2</sup>, Christopher I. Li<sup>1,2</sup>, Christopher S. Carney<sup>3</sup>, Hu-Wen Winters<sup>1</sup>, Eugene M. Parn<sup>1</sup>, Kenneth E. Thummler<sup>1</sup>, Janet R. Daling<sup>4</sup>, and Kathleen E. Malone<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>University of Washington, Seattle, WA  
<sup>2</sup>Fred Hutchinson Cancer Research Center, Seattle, WA

- Investiga los polimorfismos de un nucleótido en los genes de la vía del metabolismo del estrógeno catecol alterando el riesgo de cáncer de mama solo o en combinación.
- Igualmente analiza si la TH modificada por el efecto de estos polimorfismos aumenta el riesgo de cáncer de mama.

36

**CLASOYN**

**Q**

- 5.000 pacientes (>35 a) - 9,5 años de seguimiento: define una asociación entre el perfil de metabolización de estrógenos (relación 2/16 alfa) y la aparición de Ca de mama.(44)
- 10.000 pacientes (35 – 64 a) - 5,5 años de seguimiento: relaciona un cociente alto de 2/16 alfa con bajo riesgo de cáncer de mama.(45)
- Incremento de 50% de la vía 16 alfa hydroxyestrona en pacientes que padecen de cáncer de mama.(46)

44. Mellahn EN, De Stavola B, Allen DS, Fentiman I, Bradlow HL, Sepkovic DW, et al. Do urinary oestrogen metabolites predict breast cancer? Guernsey III cohort follow-up. Br J Cancer 1998; 78: 1250-5.

45. Multi P, Bradlow HL, Micheli A, Krogh V, Freudenheim JL, Schunemann HJ, et al. Estrogen metabolism and risk of breast cancer: a prospective study of the 2:16alpha:hydroxyestrona ratio in premenopausal and postmenopausal women. Epidemiology 2000; 11: 635-40.

46. Schneider J, Kinne D, Fracchia A, Pierce V, Anderson KE, Bradlow HL, et al. Abnormal oxidative metabolism of estradiol in women with breast cancer. Proc Natl Acad Sci USA 1982; 79: 3047-51.

**Q**

**CLASOYN**

37

**CLASOYN**

**Q**

**Por lo tanto ...**

- Existe un conjunto de evidencias que sugieren que la forma de metabolizar los estrógenos está estrechamente relacionada al cáncer de mama.
- La actividad estrogénica de los distintos metabolitos es diferente y la actividad estrogénica más fuerte puede aumentar el riesgo de cáncer de mama, cáncer de endometrio y otros cánceres.

**Q**

**CLASOYN**

38

**CLASOYN**

**Q**

**Que hacer? Dieta?**

- Estudios interpopulacionales que investigan el metabolismo de los estrógenos en poblaciones asiáticas identifican una menor concentración de estrógenos circulantes en dichas poblaciones(47) y un patrón de metabolización de estrógenos hacia los derivados 2-alfa-hydroxylados: una vía con un efecto de protección, como ya fue analizado.(48)

47. Bernstein L, Yuan JM, Ross RK, Pike MC, Hanisch R, Lobo R, et al. Serum hormone levels in pre-menopausal Chinese women in Shanghai and white women in Los Angeles: results from two breast cancer case-control studies. Cancer Causes Control 1990; 1(1): 51-8.

48. MacMahon B, Cole P, Brown JB, Lin TM, Morgan RW, Woo NC. Urine oestrogen profiles of Asian and North American women. Int J Cancer 1974; 14(2): 161-7.

**Q**

**CLASOYN**

39

**CLASOYN**

**Q**

**Por lo tanto:**

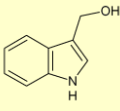
- Diversos estudios buscan valorar si es posible modificar la forma de metabolización de los estrógenos mediante la dieta.
- Las líneas de investigación se refieren fundamentalmente a tres moléculas:
  - **indol 3 carbinol**
  - **derivados de la soja, y**
  - **los lignanos** (semillas de lino).

**Q**

**CLASOYN**

40

**Indol 3 Carbinol**



- *I3C*: es una molécula muy estudiada que se encuentra en los vegetales del grupo *Cruciferos Vegetables* (colin flor, brócoli y repollo de Bruselas).
- Se ha propuesto que esta molécula y su principal metabolito tienen efecto antiestrogénico y citostático.<sup>(49)</sup>

49. Chang YC, Riby J, Chang GH, Peng BC, Firestone G, Bjeldanes LF. Cytostatic and antiestrogenic effects of 2-(indol-3-ylmethyl)-3,3'-diindolylmethane, a major in vivo product of dietary indole-3-carbinol. *Biochem Pharmacol* 1999; 58(5): 825-34.

41

- El I3C y su metabolito; efecto antitumorigénico a nivel mamario en animales.<sup>(50)</sup>
- Tal vez el I3C induce actividad de una isoforma de CYP (CYP 450 1A1) que lleva hacia la metabolización de 2 alfa hydroxyestrone.<sup>(51,52)</sup>
- Existen datos obtenidos en estudios de cultivo de células de humanos que parecen contribuir con esta hipótesis.<sup>(53-55)</sup>

50. Mori M, Tominaga T, Tamaoki BI. Steroid metabolism in normal mammary gland and in the dimethylbenzanthracene-induced mammary tumor of rats. *Endocrinology* 1978; 102:1387-97.

51. Bradlow HL, Sepkovic DW, Telang NT, Osborne MP. Indole-3-carbinol. A novel approach to breast cancer prevention. *Ann N Y Acad Sci* 1995; 768: 180-200.

52. Bradlow HL, Sepkovic DW, Telang NT, Osborne MP. Multifunctional aspects of the action of indole-3-carbinol as an antitumor agent. *Ann NY Acad Sci* 1999; 889: 204-13.

53. Cover CW, Heish SJ, Gram EJ, Hong C, Riby JE, Bjeldanes LF, et al. Indole-3-carbinol and tamoxifen cooperate to arrest the cell cycle of MCF-7 human breast cancer cells. *Cancer Res* 1999; 59: 1244-51.

54. Michnovicz JJ. Increased estrogen 2-hydroxylation in obese women using oral indole-3-carbinol. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1998; 22: 227-9.

55. Terry P, Volk A, Persson I, Magnusson C. Brassica vegetables and breast cancer risk. *JAMA* 2001; 285: 2975-7.

42

- Habito de fumar: efecto protector, debido a mecanismo de inducción enzimática (CYP 450 1A1): metabolismo estrogénico más favorable.<sup>(56)</sup>
- La "inducibilidad" de esa enzima por factores externos varía en las distintas poblaciones (polimorfismo en la expresión genética), pero aumenta con la ingestión de I3C en todas ellas (independientemente del polimorfismo), siendo el efecto más marcado en la población caucásica.<sup>(57)</sup>
- La ingesta mínima recomendada es de 100 gramos de brócoli dos veces a la semana.<sup>(58)</sup>

56. Michnovicz JJ, Naganuma H, Hershcopf RJ, Bradlow HL, Fishman J. Increased urinary catechol estrogen excretion in female smokers. *Steroids* 1988; 52: 69-83.

57. Taioli E, Bradlow HL, Garbers SV, Sepkovic DW, Osborne MP, Trachman J, et al. Role of estradiol metabolism and CYP1A1 polymorphisms in breast cancer risk. *Cancer Detect* 1999; 23: 232-7.

58. Bradlow HL, Telang NT, Sepkovic DW, Osborne MP. 2-Hydroxyestrone: the 'good' estrogen. *J Endocrinol* 1996; 150 Suppl: S259-S265.

43

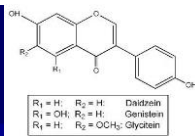
- Investigaciones en mujeres pre y postmenopáusicas demostraron que la ingesta de alimentos ricos en isoflavonas, aumentan la metabolización de los estrógenos a C-2-hydroxyestrone, reduciendo la concentración de C-16-hydroxyestrone.
- El efecto final es un aumento del cociente C-2 / C-16 y con ello una reducción del riesgo de cáncer mediado por estrógenos.
- Este efecto sería dosis dependiente y está determinado por el consumo moderado (promedialmente 10 mg de isoflavonas) y no por un consumo más alto.<sup>(59,60)</sup>

59. Xu X, Duncan AM, Merz BE, Kurzer MS. Effects of soy isoflavones on estrogen and phytoestrogen metabolism in premenopausal women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1998; 7(12): 1101-8.

60. Xu X, Duncan AM, Wangen KE, Kurzer MS. Soy consumption alters endogenous estrogen metabolism in postmenopausal women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2000; 9(8):781-6.

44

**Además . . .**



- La ingesta de isoflavonas es capaz de reducir los niveles circulantes de estradiol (ya mencionamos la relación de este con el cáncer de mama), efecto que se ha demostrado únicamente para pacientes premenopáusicas y que es biológicamente lógico.<sup>(61)</sup>

61. Lu LJ, Anderson KE, Grady JI, Nagamani M. Effects of soya consumption for one month on steroid hormones in premenopausal women: implications for breast cancer risk reduction. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1996; 5: 63-70.

45

- Dos isoformas de receptores estrogénicos: alfa y beta.
- Alfa:** acciones proliferativas en mama y endometrio.
- Beta:** acciones antiproliferativas.
- Las isoflavonas - afinidad receptor beta: efecto protector.<sup>(62-65)</sup>
- Pero** actividad estrogénica de isoflavonas es débil: 50 veces menor que el estradiol.<sup>(66)</sup>

62. Burow ME, Boue SM, Collins-Burow BM, Melnik LI, Duong BN, Carter-Wientjes CH, et al. Phytochemical glycoflavins, isolated from soy, mediate hormonal effects through estrogen receptor  $\alpha$  and  $\beta$ . *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 96: 1750-8.

63. Morito K, Aomori T, Hirose T, Kinjo J, Hasegawa J, Ogawa S, et al. Interaction of phytoestrogens with estrogen receptors  $\alpha$  and  $\beta$  (II). *Biol Pharm Bull* 2002; 25: 48-52.

64. An J, Tzagarakis-Foster C, Scharschmidt TC, Lomri N, Leitman DC. Estrogen receptor  $\beta$ -selective transcriptional activity and recruitment of coregulators by phytoestrogens. *J Biol Chem* 2001; 276: 17808-14.

65. Liu J, Burdette JE, Xu H, Gu C, van Breemen RB, Bhat KPL, et al. Evaluation of estrogenic activity of plant extracts for the potential treatment of menopausal symptoms. *J Agric Food Chem* 2001; 49: 2472-9.

66. Fioravanti L, Cappelletti V, Miodini P, Ronchi E, Brivio M, Di Fronzo G. Genistein in the control of breast cancer cell growth: insights into the mechanism of action in vitro. *Cancer Lett* 1998; 130: 143-52.

46

- Otras acciones protectoras: cambios en la (globulina transportadora de esteroides sexuales - SHBG).<sup>(67)</sup>
- Fitoquímicos: podrían inhibir aromatasas y agregar otros efectos no esteroideos eventualmente positivos, como inducir apoptosis en células cancerosas mamarias, aun en poblaciones celulares con receptores de estrógeno negativos.<sup>(68)</sup>
- De todas formas, este último efecto estudiado *in vitro* es poco probable que se logre *in vivo* por las concentraciones requeridas para ello.<sup>(69,70)</sup>
- In vitro* una acción sinérgica con el tamoxifeno.<sup>(71)</sup>

67. Martin ME, Haourigul M, Pelissero C, Benassayag C, Nunez EA. Interactions between phytoestrogens and human sex steroid binding protein. *Life Sci* 1996; 58: 429-36.

68. Grube BJ, Eng EJ, Kao Y-C, Kwon A, Chen S. White button mushroom phytochemicals inhibit aromatase activity and breast cancer cell proliferation. *J Nutr* 2001; 131: 3288-93.

69. Leung LK, Wang TT. BCL-2 is not reduced in the death of MCF-7 cells at low genistein concentration. *J Nutr* 2000; 130: 2922-6.

70. Rozo-Guisado E, Alvarez-Barrientos A, Mulero-Navarro S, Santiago-Josefat B, Fernández-Salguero PM. The antiproliferative activity of resveratrol results in apoptosis in MCF-7 but not in MDA-MB-231 human breast cancer cells: cell-specific alterations of the cell cycle. *Biochem Pharmacol* 2002; 64: 1375-86.

71. Tanos V, Brzezinski A, Drize O, Strauss N, Peretz T. Synergistic inhibitory effects of genistein and tamoxifen on human dysplastic and malignant epithelial breast cells in vitro. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2002; 102: 188-94.

47

- Pero los estudios clínicos prospectivos en adultos han fallado en demostrar protección del cáncer de mama con este suplemento dietético.<sup>(72)</sup>
- Otros metaanálisis y estudios de casos y controles no han podido demostrar esta protección cuando es usado en la posmenopausia.<sup>(63)</sup>
- Se ha postulado que para que se determine protección mamaria, la mama debe estar expuesta a estos factores en el periodo de desarrollo, es decir en la adolescencia, o incluso en el periodo del recién nacido (ya que pueden detectarse niveles significativos de flavonoides en la leche materna de mujeres asiáticas).<sup>(74,75)</sup>

72. Key TJ, Stamp GB, Appleby PN, Beral V, Goodman MT, Soda M, et al. Soy foods and breast cancer risk: a prospective study in Hiroshima and Nagasaki, Japan. *Br J Cancer* 1999; 81: 1248-56.

73. Trock BJ, White BL, Clarke R, Hlilakivi-Clarke L. Metaanalysis of soy intake and breast cancer risk. *J Nutr* 2000; 130: 6535-6805.

74. Franke AA, Custer LJ, Tanaka Y. Isoflavones in human breast milk and other biological fluids. *Am J Clin Nutr* 1998; Suppl: 1466S-1473S.

75. Lamartiniere CA. Timing of exposure and mammary cancer risk. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 2002; 7(1):67-76.

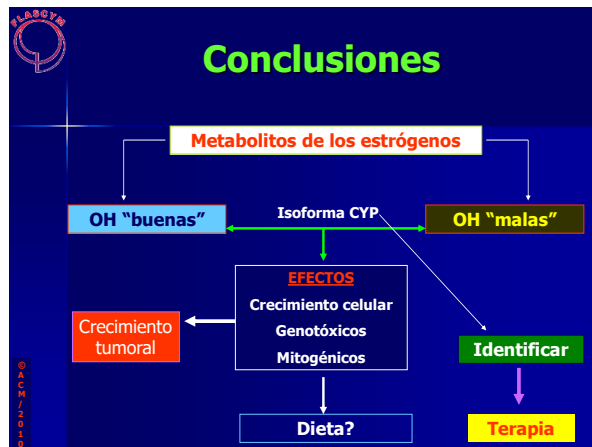
48

**Lignanos (semillas de lino)**

- Intestino: enterolactona y enterodiol.
- Atribuye varios efectos protectores:
  - Inhibe la aromatasa
  - Inhibe crecimiento de células tumorales *in vitro*.<sup>(76)</sup>
  - Aumenta la SHBG
  - Realiza retención intestinal reduciendo la circulación enterohepática de los estrógenos y sus metabolitos.
- El consumo de 10 gramos diarios mejora la relación 2-alfa / 16 alfa hydroxyestrone, hacia un coeficiente acorde a un efecto de protección.<sup>(77,78)</sup>

76. Mousavi Y, Adlercreutz H. Enterolactone and estradiol inhibit each other's proliferative effect on MCF-7 breast cancer cells in culture. J Steroid Biochem Mol Biol Mar 1992; 41(3-8): 615-9.  
 77. Haggans CJ, Hutchins AM, Olson BA, Thomas W, Martini MC, Slavin JL. Effect of flaxseed consumption on urinary estrogen metabolites in postmenopausal women. Nutr Cancer 1999; 33(2): 189-95.  
 78. Haggans CJ, Travelli EJ, Thomas W, Martini MC, Slavin JL. The effect of flaxseed and wheat bran consumption on urinary estrogen metabolites in premenopausal women. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2000; 9: 719-25.

49



50



51