

Rolul factorilor endocrini în geneza tumorilor ginecologice

The role of endocrine factors in the genesis of gynecological tumours

Camelia Cristina Cojocaru, Ana Cristina Anton*, Mihaela Grigore, Gh. Costăchescu*

Clinica a II-a Obstetrică și Ginecologie, *Prof. univ. Universitatea de Medicină și Farmacie „Gr. T. Popa” Iași
Correspondence author: Dr. Camelia Cojocaru / e-mail: camelicojocaru@yahoo.com

Abstract

Diabetes mellitus is associated with increased incidence and poor outcome of various gynecologic pathology. The authors performed a meta-analysis of published studies and try to point out the etiopathogeny of such significant association. Three mechanisms may operate in both diabetes mellitus and gynecological tumors: altered endogenous sex-hormone regulation, activation of the insulin-like growth factor (IGF), signalling pathway and activation of the insulin-signalling pathway. Obesity, the major risk factor for type 2 diabetes, is also associated with significantly increased risk of breast cancer incidence, presumably due to activation of these three mechanisms. Preclinical and clinical data suggest complex associations between the biological ef-

fects of diabetes on cancer risk and natural history, and the effects of diabetes on medical decision making about screening and management of various tumors. Clinically and pathologically, numerous stigmata of endocrine disease are evident on careful examination, which suggests that hormonal factors play an important part in the pathogenesis of endometrial carcinoma. Genetic predisposition is also likely to be involved. The association between diabetes and different gynecological tumors may be different in premenopausal and postmenopausal women, with different pathogenetic mechanisms, that requires specific therapeutic strategies.

Keywords: diabetes mellitus, receptors, hormones, carcinogenesis

Rezumat

Diabetul zaharat se asociază cu o incidență crescută și un prognostic rezervat în cazul concomitenței unei patologii ginecologice. Autorii realizează o metaanaliză a studiilor publicate în literatura de specialitate, încercând a evidenția bazele etiopatogenice ale acestei asocieri. Din analiza rezultatelor studiilor comparate se constată că există trei mecanisme care pot acționa concomitent în producerea diabetului zaharat și a tumorilor ginecologice: alterări ale concentrației endogene a hormonilor sexuali, activarea factorilor de creștere insulică (IGF) și activarea căilor de semnalizare mediate de insulină. Factorul major de risc al diabetului zaharat asociat cancerului mamar și endometrial îl constituie obezitatea, probabil prin activarea concomitentă a celor trei mecanisme. Datele clinice și paraclinice sugerează o asociere complexă între efectele biologice ale diabetului asupra carcinogenezei și evoluției naturale a afecțiunilor ginecologice, precum și efectele acestuia asupra deciziilor medicale în termeni de screening și management terapeutic. Din punct de vedere clinic și patologic, tulburările endocrine sunt evidente la examinarea primară, ceea ce demonstrează rolul esențial al factorilor hormonal în patogeneza carcinoamelor ginecologice. Asocierea între diabetul zaharat și tumorile ginecologice este diferită la femeile aflate în pre și postmenopauză, unde recunoaște mecanisme etiopatogenice diferite, ce impun strategii terapeutice specifice.

Cuvinte-cheie: diabet zaharat, receptori, hormoni, carcinogeneză

Introducere

Diabetul zaharat și afecțiunile ginecologice, extrem de heterogene, constituie un domeniu generos al cercetării medicale, ridicând o serie de întrebări legate de evoluția ginecopatiei survenită pe teren diabetic, particularitățile diabetului zaharat existent la pacientele cu afecțiuni ginecologice și modalitatea prin care terapia sa adecvată poate influența evoluția și prognosticul afecțiunilor genitale.

Factorii de risc implicați în etiologia proliferărilor maligne se clasifică în genetici și epigenetici. Factorul hormonal face parte din categoria factorilor epigenetici⁽²⁾ și poate interveni în determinismul neoplaziilor ca factor endogen (vârsta de instalare a primei menstruații, vârsta la prima sarcină, vârsta de instalare a menopauzei,

paritatea) sau exogen (hormoni alimentari, terapie hormonală de tipul contracepția hormonală, terapia hormonală de substituție în menopauză, terapia hormonală în boala neoplazică etc.). Neoplaziile localizate în țesuturi care răspund la acțiunile hormonilor reprezintă mai mult de 35% din diagnosticile noi de afectare malignă și mai mult de 40% din totalul tumorilor ginecologice apărute în Statele Unite ale Americii. Numeroase studii efectuate arată impactul hormonilor în dezvoltarea unor cancere (mamar, endometrial, ovarian, tiroidian, osos, testicular)⁽³⁾.

Carcinogeneza și mecanismul de acțiune a hormonilor în carcinogeneză

Eroarea genetică care precede dezvoltarea tumorală malignă include pierderea sau inactivarea în timpul mitozei a mai multor gene supresor tumorale care controlează funcția celulară normală. Evenimentul mutagen inițial și pierderea de alele ale genelor supresor tumorale necesită diviziunea celulară în vederea expresia fenotipului malign. Rolul hormonilor în acest proces este de a conduce diviziunea celulară⁽³⁾.

Literatura de specialitate descrie carcinogenezei șase evenimente cronologice prin care o celulă normală este transformată prin leziuni genetice și epigenetice în celulă malignă, după cum urmează: inițierea, creșterea, promoția, conversia, propagarea și progresia (invazia și metastazarea). Carcinogeneza chimică identifică și descrie primele trei mecanisme, după cum urmează:

✗ inițierea este un proces ireversibil, declanșat de factorul carcinogen, prin care se produc modificări ale ADN celular sau alterări ireversibile ale structurii genetice celulare, cu formarea unei celule cu potențial evolutiv spre o clonă malignă. Mecanismele celulare care se pare că intervin în promoție sunt genetice (leziuni cromozomiale, activarea unor protooncogene sau inactivarea genelor supresoare, alterarea nivelului de expresie a produșilor unor oncogene) și epigenetice, specifice acțiunii hormonale (activarea unor receptori, modificări ale suprafeței celulare, tulburări ale diferențierii celulare, stimularea selectivă a proliferării unor celule);

✗ promoția este un proces prin care celula inițiată poate urma diviziunea selectivă și expansiunea clonală datorită perturbării mecanismelor de control ale creșterii și diferențierii celulare. Mecanismele celulare care se pare că intervin în promoție sunt genetice (leziuni cromozomiale, activarea unor protooncogene sau inactivarea genelor supresoare, alterarea nivelului de expresie a produșilor unor oncogene) și epigenetice, specifice acțiunii hormonale (activarea unor receptori, modificări ale suprafeței celulare, tulburări ale diferențierii celulare, stimularea selectivă a proliferării unor celule);

✗ progresia - celula dezvoltă progresiv o tumoră malignă⁽⁷⁾.

Hormonii acționează ca promotori pentru celulele inițiate de carcinogeni, durata expunerii determinând riscul femeii susceptibile de a dezvolta cancer. Hormonoterapia realizează baza pentru inițiere sau promoția pentru celulele inițiate. Hormonii își exercită acțiunea prin legarea de receptori cu formarea de complexe, urmată de activarea unor enzime care inițiază al doilea mesager celular cu inducerea transcripției ADN și sinteza proteică. Progresele în biologia moleculară au permis identificarea structurii receptorilor steroizi și organizarea în diferite "domenii" funcționale⁽¹³⁾. Structura receptorului prezintă două zone: un prim situs, care fixează hormonul și un al doilea situs, care interacționează cu ADN.

Structura și rolul receptorilor

Determinarea structurii receptorilor steroizi a demonstrat existența unei „superfamilii” de receptori hormonalni proveniți prin diviziuni succesive dintr-o genă ancestrală comună. Interesul pentru dozarea receptorilor estrogenici și receptorilor progesteronici (RP) a devenit un element important de prognostic în orientarea tratamentului adjuvant, la care se asociază și alți markeri (Neu, Erb-B2, int-2, c-myc), receptori pentru factorul de creștere epidermal (EGF), catepsina D.

Studiile efectuate au demonstrat existența a două tipuri de receptori estrogenici: RE α și RE β . RE α , spre deosebire de RE β , au fost studiați în

detaliu, constituind markeri predictivi în tratamentul țintit⁽¹⁴⁾. Au fost identificate mutații importante în structura RE. Astfel, pentru K 303RE α există studii care susțin implicarea sa în cancerul mamar^(15,16).

Mecanismul activării receptorilor

Inițial, s-a considerat că receptorii steroizi sunt nucleari. Recent au fost identificați RE în citoplasmă și în apropierea membranei plasmatică, în concentrații mici, ceea ce a impus elaborarea unor metode sofisticate de detecție⁽¹⁵⁾.

Literatura de specialitate recunoaște și descrie două mecanisme ale activării receptorilor estrogenici:

✗ mecanismul clasic al activării RE nucleari: cuplarea hormonului cu receptorul declanșează direct sau indirect (prin intermediul altor proteine) începutul transcripției. Legarea hormonului cu receptorul specific induce o modificare allosterică a receptorului steroid, care antrenează o afinitate mare pentru ADN dublu catenar și, în particular, pentru secvența specifică de ADN în vederea răspunsului hormonal (HRE). În absența ligandului, domeniul de interacțiune cu ADN este mascat cu proteina de șoc termic (HSP 90). La nivelul RE este posibilă dimerizarea, care permite legarea mai puternică de ADN. În absența fixării hormonului, dimerizarea nu are loc și nu se realizează legarea specifică de ADN. În prezența hormonilor estrogeni se produce activarea completă a receptorului (R**), care se traduce prin două interacțiuni moleculare: interacțiunea specifică cu secvența de ADN care controlează expresia genelor responsabile de acțiunea hormonilor (HRE) și interacțiunea cu factorii proteici ai transcripției (TAF), care activează ARN-polimeraza și inițiază transcripția. În prezența antiestrogenului, receptorul este parțial activat (R*) pentru interacțiunea cu HRE, dar nu poate interacționa cu TAF și nu poate declanșa transcripția. Acțiunea antiestrogenică poate fi astfel explicată fie prin competiția între antiestrogeni și estrogeni pentru situsul de legare hormonal al receptorului, fie prin competiția între complexe R*

- antiestrogen și R** - estrogen pentru situsul de legare a receptorului la ADN.

Efectul unui hormon poate fi deci modificat prin alterarea afinității hormonului pentru receptor și a numărului de receptori. Cercetările au arătat că raportul RE α /RE β este mare în glanda mamară normală și scade mult în leziunile proliferative⁽⁶⁾;

✗ mecanismul activării RE membranari, important în cancerul mamar, deoarece poate declanșa direct și indirect căi importante de stimulare a factorilor de creștere. Astfel, transportul estrogenilor sau al modulatorilor selectivi ai receptorilor estrogenici (SERMs) la RE membranari poate activa PI3K/AKT și prin acesta familia de receptori ai EGF⁽¹⁷⁾.

Activarea PI3K determină inactivarea celorlalți mediatori ai apoptozei, incluzând FKHR, Bad, GSK-3. Receptorii estrogenici pot stimula expresia celorlalți factori de creștere și a receptorilor lor, amplificând semnalele generate pe aceste căi, implicând inclusiv citokinele. Consecința o reprezintă "stresul celular" care activează proteinele reglatoare. Aceste două tipuri de efecte ale activării RE: nongenomic și genomic pot activa căile factorilor de creștere, fiind implicate în rezistența la diferite terapii endocrine⁽¹⁸⁾.

Activitatea hormonală a estrogenilor în cancerul mamar, mediată prin receptori specifici, este necesară, dar nu suficientă pentru inducția tumorală. Mecanismul alternativ propus pentru explicarea inducției genotoxicității de estrogeni include alchilarea moleculară, generarea de radicali activi și derivați metabolici care acționează direct asupra bazelor ADN, în procesul numit depurinare. Acest mecanism este în studiu, iar detaliile sunt încă neelucidate^(19,20).

Cele două etape de metabolizare ale carcinogenului chimic sunt:

✗ Etapa de activare:

- oxidare cu ajutorul enzimelor oxidative ale sistemului citocrom P450;
- produșii intermediari se leagă covalent de ADN celular.

✗ Etapa de conjugare - substanțele oxidate în etapa precedentă sunt transformate în derivați glucuronid/sulfat sau conjugate cu acid mercaptopurinic și eliminate.

În tendința de a crea compuși care pot

fi rapid eliminați din organism, enzimele generează metaboliți înalt reactivi care determină leziuni celulare⁽²¹⁾.

Fitoestrogenii, poluanții din mediu pot interacționa cu RE și induce activitatea estrogenică inclusiv proliferare estrogen-dependentă.

Tumorile maligne ginecologice și diabetul zaharat

Factorii de creștere insulin-like și implicarea lor în patologia tumorală ginecologică

Descoperiri relativ recente arată implicarea factorilor de creștere insulin-like (IGF1 și IGF2) în proliferarea a numeroase țesuturi, atrăgând atenția asupra rolului lor în proliferări benigne și în dezvoltarea unor neoplazii. Implicarea factorilor de creștere insulin-like în neoplazii a fost demonstrată în culturi de celule experimentale în sarcom, leucemie, cancer de sân, ovar, uter, pancreas.

IGF sunt polipeptide mici cu 70 de aminoacizi IGF-1 (insulin growth factor-1) și 67 aminoacizi - IGF-2 (insulin growth factor-2) sintetizate la nivel hepatic sub controlul GH și transportate în circulație prin proteine specifice IGFbps (insulin growth factor-binding proteins)⁽¹²⁾. Au fost identificate 10 astfel de proteine de transport, care reglează acțiunile IGFs endocrine și paracrine⁽¹⁵⁾. Ambele molecule IGF au în proporție de 62% aceleași secvențe de aminoacizi, iar structurile lor conțin 3 legături S-S, similar cu insulina. Genele care codifică IGF sunt pe CRS 12 (pentru IGF-1) și pe CRS 11 (pentru IGF-1)^(13,14). Sistemul IGF are 2 receptori diferiți: IGF-1R și IGF-2R. Receptorul IGF-1 este foarte asemănător cu receptorul pentru insulină, cu care poate interacționa.

GH hipofizar stimulează producția hepatică de IGF-1 și, împreună, intervin în fiziologia mamară, ovariană și uterină⁽¹⁶⁾. Nivelurile circulatorii ale IGF-1 variază cu vârsta: cresc de la naștere la pubertate și scad apoi cu vârsta, în timp ce nivelurile de IGF-2 sunt de 2-3 ori mai mari decât IGF-1 și rămân constante până la pubertate⁽¹⁹⁾.

IGF-1 stimulează sinteza proteică și a glicogenului, prinefectanabolic, acționează pe termen lung asupra proliferării celulare, diferențierii celulare și a apoptozei și are

potențial mitogen pentru o mare varietate de celule, determinând creșterea sintezei de ADN^(17,18). Se presupune că axa GH-IGF-1 joacă un rol important în creșterea incidenței neoplaziilor^(20,21), riscul crescut de cancer mamar, endometrial, cervical și ovarian fiind indicat de nivelul crescut al IGF-1 la femeia în pre și post-menopauză.

Cancerul mamar

În cancerul mamar, IGF-1 intensifică expresia receptorilor estrogenici, studiile epidemiologice depistând niveluri crescute de IGF-1 la femeile care au dezvoltat cancer mamar în premenopauză⁽²⁵⁾. Perturbarea axei GH-IGF1 este urmată de inducerea expresiei IGFBP-2^(26,27).

Estrogenii reprezintă principalul stimul al proliferării celulare mamare. Prezența simultană a progesteronului duce la creșterea ritmului proliferării. Ultima precizare se bazează pe constatarea că activitatea mitotică la nivelul sânelui înregistrează un „peak” în timpul fazei luteale a ciclului menstrual⁽⁴⁾.

Efectul mitogen al estrogenilor poate fi parțial întârziat sau mediat indirect de interacțiunile între progesteron și receptorul progesteronic⁽⁵⁾. La baza migrării de la risc scăzut la risc crescut de a dezvolta cancer mamar stau factorii de mediu (dieta), baza genetică, statusul hormonal.

Asocierea dintre starea hormonală și proliferarea celulară arată importanța estrogenilor și progesteronului ca mitogene pentru epiteliul mamar. În glanda mamară au fost descrise patru tipuri de structuri glandulare:

A. tipul 1:

✗ puțin diferențiat, cu 6-11 canalicule pentru fiecare lobul;

✗ prezent la nulipare;

✗ prezent în menopauză.

B. tipul 2:

✗ complex ca structură;

✗ predominant în primii ani ai perioadei reproductive.

C. tipul 3:

✗ apare în timpul sarcinii;

✗ apare sub influența stimulilor hormonal;

✗ reprezintă structura majoritară la multipare.

D. tipul 4:

✗ structura cea mai diferențiată;

✗ prezentă în lactație;

✗ absent la nulipare.

Lobulii 1 și 2 exprimă fenotipuri maligne când sunt sub acțiunea carcinogenilor chimici, existând probabil diferențe între lobulii de tip 1 la nulipară față de multipare în raport cu sensibilitatea la carcinogeni. Faptul că secreția hormonilor steroizi crește în apropierea primei menstruații și începe să descrească după prima sarcină sugerează efectul protector al sarcinii.

În studiile cu privire la contracepția hormonală la nivelul glandei mamare nu s-au constatat efecte semnificative asupra epitelilor, dar a fost semnalată o asociere inversă cu proporția stromală⁽⁶⁾. Femeile aflate în premenopauză la care s-a practicat ovariectomia bilaterală înainte de 50 de ani pot beneficia, conform statisticilor, de reducerea riscului de cancer mamar până la 50%.

Cancerul mamar asociat cu diabet zaharat, ca și cancerul de colon pare să fie sensibil la factorii alimentari, în strânsă legătură cu consumul crescut de grăsimi animale la femeia în post-menopauză⁽⁴⁴⁾.

Importanți ca acțiune în cancerul mamar la femeia obeză sunt acizii grași cu configurație chimică „trans” care provin din prelucrarea industrială a uleiurilor vegetale. Mecanismul nu este pe deplin cunoscut, dar se sugerează o secreție mai mare de estrogeni la femeile care consumă acest tip de grăsimi. Hiperinsulinemia poate acționa ca promotor în carcinogeneza mamară, iar insulinorezistența, caracteristică diabetului zaharat tip 2, poate fi corelată cu creșterea riscului de cancer de sân. Michels și colaboratorii a realizat un studiu în care evaluează asocierea între diabet zaharat tip 2 și incidența cancerului mamar invaziv. În studiu au fost incluse 116.448 de femei cu vârste cuprinse între 30 și 55 de ani pe perioada 1976-1998, identificându-se 6.220 de femei cu diabet zaharat tip 2 și 5.189 de cazuri cu cancer mamar invaziv. În cazul pacientelor cu tipul 2 de diabet zaharat s-a înregistrat o creștere modestă a incidenței cancerului de sân comparativ cu femeile nediatectice, independent de vârstă, obezitate, istoric familial de cancer mamar sau afecțiuni mamare benigne, factori de reproducere, activitate fizică⁽²³⁾. Asocierea cancer mamar-diabet zaharat apare mai

ales la femeia în post-menopauză și predominant la femei cu cancer mamar receptor estrogen pozitiv.

În ianuarie 1998, Sellers publică rezultatele unui studiu realizat pe 41.837 de femei cu vârste între 55 și 69 de ani, pe o perioadă de 10 ani, în care a încercat să stabilească conexiuni între istoricul familial de diabet și cancerul mamar. Au fost identificate 1.013 cazuri de cancer mamar, dar asocierea a fost importantă în cazul surorilor, în rest nu a fost semnificativă⁽²⁶⁾. Pacientele cu istoric familial de diabet au o prevalență crescută a factorilor de risc pentru neoplasmul mamar.

Studiul realizat de dr. Furberg și colaboratorii săi la Universitatea Tromba din Norvegia pe 39.000 de femei identifică 708 care au dezvoltat cancer mamar invaziv în decursul celor 17 ani de urmărire. A fost analizată interacțiunea între tulburările metabolice, obezitate și concentrație serică scăzută a HDL-C (high-density lipoprotein cholesterol) și carcinogeneza mamară. Concluzia studiului a fost că pacientele cu diabet zaharat tip 2 au frecvent nivel scăzut de HDL-colesterol, prezentând risc crescut pentru cancer mamar. Nivelul scăzut al lipoproteinei cu densitate crescută (HDL-C) poate servi ca marker pentru riscul de cancer mamar la femeia în post-menopauză.

Cercetările făcute în acest sens au arătat că prevalența sindromului metabolic (caracterizat prin obezitate, intoleranță la glucoză, concentrație scăzută de HDL-C, concentrație scăzută de trigliceride, hipertensiune) este mare și în continuă creștere, în paralel cu creșterea incidenței cancerului mamar⁽⁴⁷⁾. Cercetările pe animale de laborator demonstrează că celulele mamare neoplazice pot fi stopate în procesul de multiplicare prin expunerea la acțiunea medicamentelor antidiabetice și vitaminei A.

Troglitazone (antidiabetic utilizat în insulinorezistență), împreună cu Accutane (vitamina A) pot acționa sinergic: inhibă creșterea celulară și induc apoptoza în celulele neoplazice⁽⁴⁸⁾. Separat, cele 2 medicamente au un efect discret, dar împreună pot avea efecte spectaculoase, așa cum susțin realizatorii studiului din Centrul medical Cedars-Sinai, California. S-ar părea că această combinație de medicamente

nu are efecte secundare pe celulele sănătoase, mecanismul de acțiune fiind insuficient cunoscut.

Troglitazone se leagă de doi receptori în celule tumorale: receptorul steroid-peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARγ) și retinoid receptor. Activarea receptorului determină o reacție complexă în care e implicată gena bC1-2 cu rol în apoptoză (nivelurile crescute ale acesteia inhibă apoptoza, în timp ce nivelurile scăzute induc apoptoza). Deci, putem spera că tratamentul direct al diabet zaharat poate avea efecte benefice asupra femeii cu neoplasm mamar.

Cancerul endometrial

Profilul femeii cu cancer de endometru asociază obezitate, diabet zaharat, nuliparitate, menarhă precoce, menopauză tardivă. Factorii de risc hormonal pentru cancerul endometrial sunt terapia hormonală de substituție, terapia cu antiestrogeni, obezitatea, menopauza tardivă, nuliparitatea, infertilitatea. Factorii protectori pentru cancerul endometrial sunt sarcina și contracepția orală.

Obezitatea, care caracterizează 80% din persoanele cu diabet zaharat tip 2, determină creșterea ratei de progresie a cancerului după tratamentul inițial^(14,21). Frecvența diferitelor tipuri de tumori maligne nu este uniform crescută la obeze comparativ cu populația generală.

Literatura de specialitate studiază și descrie patru mecanisme prin care nivelurile crescute de hormoni și obezitatea pot induce apariția neoplaziilor:

✘ obezitatea accelerează secreția de hormoni steroizi care se leagă de receptori specifici în celulele organelor hormon-dependente și determină creșterea și proliferarea celulară;

✘ obezitatea se însoțește de scăderea sintezei de SHBG (sex hormon binding globulin), determinată de sinteza excesivă de androgeni și de creșterea fracției libere a estrogenilor circulanți;

✘ obezitatea determină sinteza crescută de factori paracrinici (citokine) la nivelul celulelor adipoase și leucocitelor, diminuând o dată cu scăderea ponderală. Aceste citoxine, numite

adipocitokine, cresc stresul oxidativ în celulele epiteliale, intervenind astfel în mutageneză și carcinogeneză^(32,33);

✗ hormonii steroizi cresc stresul oxidativ, favorizând proliferarea celulară și afectarea ADN-ului, mecanismele de apărare antioxidantă fiind afectate precoce în procesele neoplazice.

Obezitatea crește riscul de cancer endometrial, știut fiind că țesutul adipos este bogat în aromatază (CYP 21), enzima care catalizează reacția de conversie a androstendionului în estronă^(3,5). De asemenea, sex-hormone binding globulin (SHBG), proteina de transport al hormonilor steroizi, are nivel scăzut la femeile obeze, cantitatea de estrogeni biodisponibili fiind astfel mare. Rezultă o expunere prelungită a endometrului la niveluri crescute de estrogeni necontrabalansați de progesteron. Obezitatea este asociată cu tulburări ale metabolismului glucidic. Diabetul zaharat crește de 1,3-2,8 ori riscul pentru cancer endometrial.

Nuliparele au un risc de 3-5 ori mai mare de a face cancer endometrial decât multiparele, efectul protector fiind realizat de sarcinile la termen.

Infertilitatea, mai ales cea de cauză ovariană, a fost asociată cu risc moderat pentru cancerul endometrial, ca și alte stări care induc creșterea estrogenilor endogeni.

Utilizarea contraceptivelor orale combinate a fost asociată cu reducerea riscului pentru cancer endometrial cu aproximativ 50%⁽⁵⁾.

Endometrul constituie unul din țesuturile umane cu rată de creștere rapidă, aflat sub controlul estrogenilor, progesteronului, factorilor de creștere (EGF-factor de creștere epidermal, IGF). IGF BP-1 poate fi considerat marker produs de celulele stromale endometriale în faza secretorie tardivă, IGFBP modulând acțiunea IGF-1 pe tot parcursul ciclului menstrual⁽²²⁾. În sprijinul acestei afirmații vin rezultatele obținute de Ayabe, care a identificat niveluri circulatorii crescute de IGF-1 la femeia în post-menopauză cu cancer endometrial⁽²³⁾, iar Kleinmann observă stimularea tirozin fosforilazei de IGF-1 în culturi de celule și scăderea ARNm IGFBP-3⁽²⁴⁾.

În ceea ce privește activitatea mitotică la nivel endometrial, s-a constatat că, în perioada premenopauzală, se

înregistrează o creștere a acestora în prima jumătate a ciclului menstrual, urmând ca la menopauză, o dată cu încetarea activității funcției ovariene, panta să scadă dramatic. Totuși, rata cancerului endometrial continuă să crească în post-menopauză în strânsă legătură cu utilizarea terapierii hormonale⁽⁵⁾.

Grady și colaboratorii realizează un studiu pe 24.664 de femei în post-menopauză. Urmărirea s-a făcut pe o perioadă de 12 ani, 346 de cazuri din studiu reprezentând cazuri cu risc. A fost calculat riscul relativ pentru cancer endometrial al femeilor cu diabet zaharat față de femeile nediatectice. Din lotul studiat au fost excluse cazurile cu diabet zaharat cu vârsta <30 de ani pentru a selecta femeile cu diabet zaharat tip 2.

Factorii de risc pentru cancer endometrial au fost vârsta primei menstruații, vârsta de instalare a menopauzei, debutul vieții sexuale, paritatea, avorturi, tratamente hormonale, istoric familial de neoplazii, activitatea fizică, greutatea. Rezultatele studiului au arătat că femeile care au dezvoltat cancer endometrial sunt nulipare (12,7% față de lotul de control 9,1%).

Pacientele care au utilizat contraceptive orale au avut o incidență mai scăzută a neoplasmului endometrial (14,2% față de lotul de control 18,7%). Incidența caracterului endometrial este mai mare la femeile cu menopauză tardivă și la cele cu menstruații neregulate.

Femeile diabetice care au dezvoltat cancer endometrial au avut nivel endometrial scăzut și activitate fizică redusă. 85% din cazurile cu neoplasm endometrial au asociat hipertensiune arterială și diabet zaharat tip 2.

Rezultatele studiului sunt limitate, pornind de la premisa că 50% din diabetici din populația generală nu sunt diagnosticați, iar mecanismele fiziopatologice prin care acționează insulina și factorii de creștere nu sunt complet elucidate. Relația dintre diabet zaharat și cancerul endometrial este extrem de complexă, fiind determinată de modificările fiziopatologice care însoțesc obezitatea (măsurată prin indicele de masă corporală - BMI).

Riscul persoanelor cu diabet zaharat de a dezvolta cancer endometrial,

independent de obezitate, ar putea fi explicat prin 2 mecanisme:

I. Primul mecanism:

✗ Hiperinsulinemia (prin insulinoză rezistență în diabet zaharat tip 2) determină expunerea endometrului la niveluri crescute de estrogeni.

La femeia în menopauză, ovarele nu mai produc cantități semnificative de estrogeni sau progesteron, sursa cea mai importantă fiind țesutul adipos la nivelul căruia se produce aromatizarea androstendionului în estronă. Insulina stimulează eliberarea de testosteron ovarian, iar hiperinsulinemia poate crește nivelul estrogenilor. Conform acestei ipoteze, insulina scade nivelul SHBG, crescând astfel fracția liberă a estrogenilor, cu inhibarea producției hepatice de SHBG⁽⁵²⁾.

✗ În post-menopauză, la femeile care au asociat diabet zaharat s-au constatat niveluri crescute ale estrogenilor urinari.

II. Al doilea mecanism este acțiunea insulinei la nivel hepatic care scade IGFBP-3 (insulin-like growth factor binding, protein-3), proteina de transport al factorilor de creștere insulin-like, această acțiune fiind urmată de creșterea în circulație a IGF-1, ce are receptori la nivelul endometrului și stimulează proliferarea celulară. Nivelul scăzut al lipoproteinei cu densitate crescută (HDL-C) poate servi ca marker pentru riscul de cancer mamar la femeia în post-menopauză.

Cercetările viitoare vor putea răspunde la întrebările care se pun în clasificarea acestor mecanisme. Dacă diabetul zaharat conferă risc pentru femeile obeze de a dezvolta cancer endometrial, un risc important îl conferă obezitatea prin ea însăși. Ca urmare, prevenirea și tratarea obezității rămâne o modalitate primară de prevenție în cancerul endometrial asociat cu diabet zaharat tip 2.

Scăderea în greutate este asociată cu scăderea insulinoză rezistenței, îmbunătățind statusul hiperglicemic și reducerea tensiunii arteriale. Diabetul zaharat reprezintă un factor de prognostic sever care influențează rata invaziei ganglionare și supraviețuirea pacienților cu neoplasm de endometru. Steiner și colaboratorii realizează un studiu în care analizează asocierea diabet zaharat și supraviețuirea pacienților

cu cancer endometrial, alăturându-se astfel preocupărilor care există în acest sens. Lotul include 181 de paciente cu cancer endometrial tratate între 1985 și 1995 la Spitalul Universitar Mainz. Pacientele cu sarcom au fost excluse. Pacientele studiate au prezentat invazie miometrială semnificativă și metastaze ganglionare⁽⁵⁴⁾.

În cancerul de col uterin, concentrația serică a IGF-2 poate reprezenta un potențial marker, deoarece femeile cu această neoplazie au concentrații serice ale IGF-2 crescute înainte de terapie și acestea scad semnificativ post-terapie. Aceasta face ca IGF-2 să fie recomandat în diagnosticul și prognosticul neoplasmului cervical⁽²⁹⁾. IGF-1 inițiază creșterea in vitro în neoplasmul de col uterin. Hembree și colaboratorii săi au arătat acțiunea HPV (Human papilloma viruse) tipul 16 asupra celulelor cervicale într-un mediu bogat în IGF-1. Au constatat inhibarea producției de IGFBP și intensificarea acțiunii IGF-1^(30,31).

Cancerul ovarian

Factorii de risc endocrin pentru cancerul ovarian sunt menopauza tardivă și inductorii de ovulație. Factorii protectori endocrin pentru cancerul ovarian sunt sarcina și contraceptivele orale. Stimulul pentru diviziunea celulară în etiologia cancerului ovarian nu este hormonal, mai degrabă este urmarea fiecărei ovulații ce are ca rezultat direct inducerea de modificări la nivelul complexului hormonal. Există ipoteza gonadotrofinelor, conform căreia expunerea prelungită a ovarelor la acțiunea gonadotrofinelor hipofizare determină neoplazia. Această ipoteză sugerează că multiparitatea și utilizarea contraceptivelor orale au efecte benefice, iar inductorii de ovulație cresc riscul. De aici concluzia că nuliparele au un risc cu 50% mai mare pentru cancerul ovarian⁽⁵⁾.

La pacientele cu cancer de ovar au fost găsite, de asemenea, niveluri crescute ale IGF-1 și reduse de IGFBP-3, iar la cazurile cu tumori invazive, nivelurile de IGF-1 au fost semnificativ mai mari decât în tumorile chistice benigne sau tumorile borderline. IGF-2, la femeile cu cancer de ovar a avut niveluri mai mari decât la femeile cu tumori chistice benigne. Acești markeri pot avea

valoare diagnostică în tumorile de ovar, furnizând informații despre gradul de malignitate și invazia tumorală⁽²⁸⁾.

Studiile care susțin obezitatea ca factor de risc în neoplasmul de ovar sugerează că se produce stimularea androgenică excesivă a celulelor epiteliale ovariene^(26,27).

Asocierea diabet zaharat cu cancerul vulvar este modest susținută de studii epidemiologice și insuficient studiată, femeile cu această neoplazie fiind în 30% dintre cazuri obeze, insulinoresistența acționând prin mecanismul descris deja⁽²⁵⁾.

Tumorile benigne și diabetul zaharat

Factorii de creștere insulin-like și proliferările benigne genitale

Fibromul uterin este cea mai comună tumoră benignă, care are o incidență de 20-30% la femeile aflate în timpul perioadei reproductive⁽³²⁾.

Nivelurile crescute ale receptorilor estrogeni (RE) și receptorilor progesteronici (RP) găsite în fibroamele uterine sugerează rolul estrogenilor în dezvoltarea lor, în strânsă conexiune cu factorii de creștere. IGF-1 poate stimula mitoza chiar în absența steroizilor, iar expresia receptorilor IGF-1-R și IGF-2-R în fibroame nu este dependentă de faza ciclului menstrual⁽³³⁾.

Strown și colaboratorii săi arată că IGF-1 în culturi de celulele în fibromul uterin determină multiplicarea celulară în absența hormonilor steroizi sau a altor factori de creștere⁽¹⁴⁾. Supraexpresia IGF-2 poate fi promotor pentru dezvoltarea unor tumori inclusiv la nivelul uterului⁽¹⁵⁾.

În legătură cu ARNm (acidul ribonucleic mesager) care codifică IGF-1 s-a constatat că expresia sa este sub influența estrogenilor în faza proliferativă tardivă a ciclului menstrual⁽³³⁾. Această concluzie reprezintă suportul corelației între concentrația serică a estradiolului și nivelul ARNmIGF-1 în fibromul uterin. Există studii care arată că, la femeia în perioada fertilă, cu uter fibromatos, există o expresie crescută a ARNm IGF-1 și concentrații crescute tisulare a IGF-1.

Un alt studiu (Vollen Saven și col.) cercetează un lot de femei

tratate anterior cu agoniști de GnRH (gonadotropine releasing hormone) comparativ cu lotul martor, urmărind expresia ARNm IGF-I, II sau IGFBS în fibromul uterin. Datele obținute indică o scădere a concentrației estradiolului, progesteronului și ARNmIGF-1. Acest lucru demonstrează rolul IGF-1 în dezvoltarea fibromului^(26,27).

Supraexpresia IGF-2 poate fi promotor pentru dezvoltarea unor tumori inclusiv la nivelul uterului⁽²⁵⁾. Datele existente în literatură susțin această asociere prin studii epidemiologice care arată mai ales implicarea factorilor de creștere insulin-like IGF-1 și IGF-2.

Mastopatia diabetică reprezintă o entitate rară de leziune mamară fibroinflamatorie la femeia cu diabet zaharat tip 1 (după evoluție lungă) în premenopauză, cu complicații microvasculare multiple. Alți termeni utilizați sunt mastopatie fibroasă, lobulită limfocitară, sclerozanță, mastopatie limfocitară. Factorii de risc care ar putea explica asocierea cu diabet zaharat tip 1 sunt leziunile microvasculare, neuropatia, factorii hormonal, calitatea controlului glicemic, utilizarea contraceptivelor orale, boala tiroidiană autoimună.

Mastopatia diabetică se întâlnește la 80% din cazurile cu diabet zaharat tip 1. Se pare că evoluția nu este influențată de tratamentul cu insulină și nici de vârsta diagnosticării diabetului și nu crește riscul de neoplazie mamară. Clinic, este vorba de condensări glandulare cu dimensiuni care pot merge până la 3-6 cm, uneori greu de diferențiat de leziuni maligne. Diagnosticul este histopatologic, fiind vorba de o leziune benignă cu lobulită limfocitară, fibroză keloidă, atrofia unității lobulare. Tratamentul constă în excizia formațiunii.

Chemoprevenția și medicația blocantă de receptor

Terapia endocrină modulează răspunsul determinat de interacțiunea dintre factorul de creștere și receptorul celular specific. Clasic, terapia endocrină acționează în două moduri, fie prin inhibiția funcției organelor care secretă estrogeni (terapia ablativă), fie prin blocarea sau perturbarea interacțiunii

estrogen-RE (terapia aditivă). În sens larg, terapia hormonală mediază interacțiunea progesteron-RP, androgen-AR (androgen receptor), glucocorticoid-GR (glucocorticoid receptor), factori de creștere - receptori de suprafață (IGFR1 și 2, EGFR), diferiți factori angiogenici și receptorii lor (factorul de creștere fibroblastic, factorul de creștere vascular endotelial)⁽²²⁾. Fiecare din aceste "axe endocrine" joacă un rol important în oncogeneză.

Pornind de la ideea că estrogenii au efecte fiziologice importante în creșterea și funcția țesuturilor hormon-dependente (sân, uter, vagin, ovare), mențin densitatea minerală osoasă, modulează funcția cognitivă și comportamentală, strategia de a bloca sau reduce funcția estrogenilor în încercarea de a trata sau preveni cancerul poate avea un impact important asupra sănătății femeii. Utilizarea antiestrogenilor în chemoprevenția cancerului mamar este atractivă, deoarece s-a demonstrat că cele mai multe cancere oculte au nevoie de estrogeni pentru promoția și dezvoltarea într-o tumoare evidentă clinic.

Tamoxifenul a fost un candidat promițător pentru testarea clinică, demonstrând eficiență în tratamentul femeii cu cancer mamar⁽²⁵⁾. Trialurile realizate cu tamoxifen au arătat reducerea incidenței cancerului mamar invaziv, dar asociază acest agent cu riscul de cancer endometrial⁽²⁴⁾. În anul 1986, un trial realizat de Powles și colaboratorii săi la Royal Marsden Hospital și care a utilizat tamoxifen versus placebo pentru a evalua toxicitatea, protecția, acceptabilitatea și complianța femeilor care aveau risc de a dezvolta cancer mamar, existând un istoric familial, a demonstrat următoarele: complianța excelentă la tratament, prezența de efecte toxice de tipul metroragii, edeme, bufeuri, grețuri.

Între anii 1992 și 1997, Veronesi și colaboratorii săi au efectuat "Italian National Trial", studiind 5.408 femei cu histerectomie, dintre care 74% aveau ovariectomie bilaterală și 14% au primit hormonoterapie (tamoxifen). Efectele de chemoprevenție ale tamoxifenului au fost compromise de ovariectomii (74%). Nu s-au găsit diferențe statistice ale incidenței cancerului de sân între

femeile tratate cu tamoxifen și lotul placebo⁽²³⁾.

În iunie 1992, în SUA, Fischer și colaboratorii săi realizează în cadrul "National Surgical Adjuvant Breast Project" un studiu pe 13.388 de femei pe o durată de 5 ani în care 6.681 au fost tratate cu tamoxifen (20 mg/zi) și 6.707 au primit tratament placebo. Au fost selectate femei cu vârsta sub 60 de ani, care prezentau ca factori de risc adiționali istoric familial, leziuni benigne de sân biopsiate, nuliparitate, menarhă precoce. În rezultatele publicate s-a arătat că în grupul tratat cu tamoxifen 86 de femei au dezvoltat cancer mamar și a fost demonstrată o creștere a incidenței cancerului endometrial, accidentelor tromboembolice și a cazurilor de cataractă⁽²²⁾.

În anul 1994 încep să fie evaluați antiestrogenii de generația a doua (raloxifenul și toremifenul). Doza utilizată în studiu pentru raloxifen a fost de 60 mg/zi. S-a încercat să se demonstreze că acești anti-estrogeni acționează mult mai eficient ca blocant estrogenic, au efect citostatic pe celule RE și nu au efect proliferativ la nivelul endometrului⁽²⁷⁾. Ultimele rezultate au infirmat aceste ipoteze, dezarmându-i pe cei care își pusese mari speranțe în acest arsenal terapeutic.

Inhitorii de aromatază (Letrozol, Anastrozol, Exemestan) pot bloca atât efectele estrogenice mediate de receptori, cât și sinteza endogenă a estrogenilor. Se așteaptă ca a treia generație de inhibitori de aromatază să reducă nivelul estrogenilor circulanți, producția locală și efectele carcinogenetice ale hormonilor, fiind astfel utili în chemoprevenția femeilor sănătoase, dar care au risc de a dezvolta cancer. "Supraexpresia" aromatazei la nivel mamar reprezintă ipoteza unei cauze indirecte a cancerului mamar⁽²⁸⁾. Cercetări recente arată că supraexpresia genică poate crește în intensitate transcripția sau poate determina pierderea silențioasă a regiunii promotor. Polimorfismul genei Cyp 19 care codifică P450 aromataza a fost identificat în populația generală⁽²⁹⁾. Variația acestei gene poate crește riscul de cancer. Actual se studiază posibilitatea ca gena aromatazei să joace rol de oncogenă⁽³⁰⁾.

În concluzie, inhibitorii de aromatază pot realiza chemoprevenția reală, în timp ce antiestrogenii acționează ca și chemosupresori, blocând progresia tumorală, dar nu și inițierea.

Concluzii

✗ Pentru prevenția cancerelor hormon-dependente ar fi utile mai multe informații privind:

- fiziologia hormonală, mai ales în perioadele "vulnerabile" ale organismului (pubertate, adolescență, menopauză);

- genele-cheie activate în răspunsul la "stresul celular";

- angiogeneza tumorală, factorii de creștere, invazia și metastazarea tumorilor;

- impactul factorilor de mediu (poluanți, fitohormoni) asupra organismului.

✗ În ceea ce privește terapia hormonală și efectele sale benefice în tratamentul bolii neoplazice, ca și celelalte mijloace terapeutice care ne sunt astăzi accesibile, este hazardant să facem aprecieri pe termen lung, deoarece nu putem fi siguri dacă apariția acestor cancere nu a fost mai degrabă întârziată decât prevenită;

✗ Prevenirea și tratarea obezității rămâne o modalitate primară de prevenție în cancerul endometrial asociat cu diabet zaharat tip 2;

✗ Diabetul zaharat reprezintă un factor de prognostic sever care influențează rata invaziei ganglionare și supraviețuirea pacientelor cu neoplasm de endometru;

✗ Hiperinsulinemia poate fi promotor al carcinogenezei mame și endometriale;

✗ La femeia în post-menopauză, asocierea cancer mamar-diabet zaharat se întâlnește mai ales la cazurile ER pozitive;

✗ Risc crescut pentru cancer mamar au femeile cu insulinorezistență, istoric familial de diabet zaharat, sindrom metabolic;

✗ Cuantificarea hormonilor steroidieni, insulinei, IGF1, IGF 1 și 2 și a altor factori de creștere va ajuta la înțelegerea relației complexe dintre diabetul zaharat și tumorile ginecologice;

✗ Există speranța că tratamentul adecvat al diabetului zaharat va avea efecte benefice asupra incidenței și evoluției tumorilor ginecologice.

Bibliografie selectivă

1. Darnell J., Lodish H. Molecular cell biology, Scientific American Book, New York, 1995.
2. Ștefănescu D., Călin G. Genetica și cancerul. Editura Didactică și Pedagogică, București, 1997.
3. De vita V.T. Jr. (ed.) Cancer Principles and practice of oncology, 6th edition, Lippincott - Williams and Wilkins, Philadelphia, 2001.
4. Ferguson D.J.P., Anderson T.J. Morphological evolution of cell turnover in relation to the menstrual cycle in the "resting" human breast. *Br. J. Cancer* 1998/44; 177.
5. Brian E. Henderson, Leslie B., Ronald R. Etiology of Cancer: Hormonal Factors in: De vita VT, Hellman S, Rosenberg SA (ed.) - Cancer principles and practice of oncology 5th edition, Lippincott - Raven, Philadelphia 1997: 219-224.
6. Pricop M. Patologie mamară benignă. Ed. Institutul European, Iași 2003, 244-248.
7. Perry C.M. (ed) American Society of Clinical Oncology 1999 Educational Book - 35th Annual Meeting, Atlanta GA, 1999: 640-654.
8. Henderson B.E., Feigelson H.S. Hormonal carcinogenesis. *Carcinogenesis* 2000; 21: 472-433.
9. Devaneson P., Santen R.J., Bocchiafuso W.P., Korachks, Rogan E.G., Cavalieri E. Catechol estrogen metabolites and conjugates in mammary tumors and hyperplastic initiation of mammary tumors. *Carcinogenesis* 2001; 22: 1573-1576.
10. Ruan W., Catonese V., Wiczorek R., Feldman M., Kleinberg D.L. Estradiol enhances the stimulatory effect of insulin like growth factor - 1 (IGF - 1) of mammary development and growth hormone induced IGF - 1 messenger ribonucleic acid. *Endocrinology* 1995; 136: 1.296-302.
11. Stewart A.J., Johnson M.D., May F.E., Westley B.R. Role of insulin - like growth factors and the type insulin like growth factor in the estrogen stimulated proliferations of human breast cancer cells. *J. Biol. Chem.* 1990; 265: 21, 172-1178.
12. Liu M.M., Albanese C., Anderson C.M., Hihy K., Webb P., Price Jr. R.H., Pestell R.G., Kushner P.J. Opposing action of estrogen receptors alpha and beta on cyclin D1 gene expression. *J. Biol. Chem.* 2002, 277; 24353-24360.
13. Giguère V., Hollenberg S.M., Rosenfeld M.G., Evans R.M. Functional domains of the human glucocorticoid receptor *Cell*, 1986; 46: 645-652 et Green S Chanban P. A superfamily of potentially oncologic hormone receptors. *Nature* 1986, 324; 615-617.
14. Mosselman S., Polman, Dijkema R. ER beta identification and characterizations of a novel human estrogen receptors. *FEBS Lett.* 1996; 392: 49-53.
15. Schiff R., Saw F. The importance of the estrogen receptor in breast cancer in: Pasqualini Jr., ed. *Breast Cancer: Prognosis, Treatment and Prevention*. New York: Marcel Dekker 2002; pp 149-186.
16. Fuqua S.A., Wittschke C., Zhang Qx., Borg A., Castles C.G., Friedrich W.E., Hopp T., Hilsenback S., Mohsin S., O'Connell P., Allred D.C. A hypersensitive estrogen receptor alpha mutations in premalignant breast lesions. *Cancer Res* 2000; 60: 4026-4029.
17. Razandi M., Pedrom A., Park S.T., Levin E.R. Proximal events in signaling by plasma membrane estrogen receptors. *J. Biol. Chem.* 2003; 278: 2701-2712.
18. Levin E.R. Bidirectional signaling between the estrogen receptor and the epidermal growth factor receptor. *Mal Endocrinol* 2003; 17: 309-317.
19. Cavalieri E.L., Stack D.E., Devonesan P.D. et al. Molecular origin of cancer. Catechol estrogen - 3-4 - quinones as endogenous tumor initiators. *Proc. Natt Acad. SCI USA* 1997; 94:10937-10942.
20. Feigelson H.S., Henderson B.E. Estrogens and breast cancer. *Carcinogenesis* 1996. 17: 2279-2284.
21. Cavalieri E.L., Frenkel K., Liehr J.G., Rogan E., Roy D. Estrogens and endogenous genotoxic agents - DNA adducts and mutation S.J. *Natt Cancer Inst. Monographs* 2000; 75-93.
22. Fisher B., Constantino J.P. Wickerhann D.L. et al. Tamoxifen for prevention of breast cancer: Report of the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project P-1 study. *J. Natt Cancer Inst* 1998; 90: 1371-1388.
23. Veronessi U., Maisonneuve P., Costa A. et al. Prevention of breast cancer with tamoxifen: preliminary findings from the Italian randomised trial among hysterectomised women. *Lancet* 1998, 352: 93-97.
24. Pritchard K.I. Is transfer effective in prevention of breast cancer?. *Lancet* 1998; 352: 80-81.
25. Levenson A.D., Jordon V.C. Selective estrogen receptor modulation; molecular pharmacology for the new millennium. *Eur. J. Cancer* 1999; 35: 1628-1639.
26. Powles T., Eeles R., Ashley S. et. al. Interim analysis of the incidence of breast cancer in the Royal Marsten Hospital. Tamoxifen randomized chemoprevention trial. *Lancet* 1998; 352: 98-101.
27. Ettinger B., Block DM., Mitlak BH., et al. Reduction of vertebral fracture risk in postmenopausal women with osteoporosis treated with raloxifen: Results from a 3-year randomized clinical trial. Multiple outcomes of raloxifen Evolution investigators. *Jama* 1999; 282: 637-645.
28. Harada N. Aberrant expressions if aromatase in breast cancer tissues. *J Steroid Broken Mol Biol.* 1997; 61: 175-184.
29. Siegelmann-Daniel; N. Buetoa K.H. Constitutional genetic variation at the human aromatase gene (CYP19) and breast cancer risk. *B. J. cancer* 1999, 79: 456-463.
30. Jin T., Zhang X., Li N., Goss P.E. Characterization of a novel silencer element in the human aromatase gene P II promoter. *Breast cancer Res Treat* 2000, 62: 151-159.
31. Persson I., Weiderpass E., Bergkvist L. et al Rises of breast and endometrial cancer after estrogen and estrogen-progestin replacement. *Cancer Causes Control* 1999; 10: 253-260.
32. Nandi S., Gusman R.C., Yang J. Hormones and mammary carcinogenesis in mice, rats, and humans. A unifying hypothesis. *Proc. Natt Acad USA* 1995; 92: 3650-3657.
33. Thompson L.U. Goss P.E. *Breast Cancer Res Treat* 2000; 64-50.