

Progestágenos y cáncer de mama: desarrollo de un modelo experimental

Claudia Lanari¹, Alfredo A. Molinolo²

1 Investigadora Independiente de CONICET y jefe del Laboratorio de Carcinogénesis Hormonal del Instituto de Biología y Medicina Experimental.

2 Investigador de Fundación Sales.

Recibido:

Recibido en: 11/10/2003

| Aceptado:

Aceptado en: 28/11/2003

Contacto: Claudia Lanari - clanari@dna.uba.ar

El término genérico cáncer de mama se refiere a la proliferación neoplásica maligna originada en el compartimiento epitelial ya sea de estructuras ductales o lobulares de la glándula mamaria, siendo el más común, el carcinoma ductal. Este cáncer, según los informes de la Organización Mundial de la Salud constituye la neoplasia maligna más común en la mujer en el mundo occidental. Es la segunda causa de muerte por cáncer en Estados Unidos (1). Su incidencia es similar en Argentina y las tasas de mortalidad muestran un incremento sostenido.

Etiopatogenia/Factores de riesgo.

La mayoría de los factores epidemiológicos de riesgo del carcinoma mamario se asocian a una estimulación intensa y/o prolongada por hormonas sexuales femeninas. Dentro de los factores relacionados con hormonas podemos considerar los siguientes:

Historia menstrual y reproductiva; menarca temprana, menopausia tardía, preñez a término tardía y obesidad.

Lactancia: El riesgo se reduce en mujeres premenopáusicas que amamantan, pero no entre las posmenopáusicas con historia de lactancia (2).

Hormonas exógenas: los estrógenos exógenos, solos o combinados con progestágenos, elevan el riesgo de cáncer de mama (3). Para los progestágenos el riesgo relativo estimado fue 1.1 (95% IC, 0.99-1.2) para los contraceptivos orales y 1.09 (95% IC, 0.89-1.2) para los inyectables (4). El riesgo de cáncer de mama es mayor con el uso de progestágenos combinados con estrógenos, ya sea en forma secuencial o continua, que con el uso de estrógenos solos (5). Con anticonceptivos, parece haber un aumento bajo entre las mujeres jóvenes con consumo prolongado (6). En un meta-análisis de datos provenientes de 51 estudios epidemiológicos de la relación entre riesgo de cáncer de mama y terapia de reemplazo estrogénico durante la menopausia se observó un riesgo aumentado con el uso de la terapia de reemplazo por más de 5 a 10 años (7). Con el fin de disminuir los efectos adversos de estrógenos en útero se comenzaron tratamientos combinados de estrógenos y medroxiprogesterona en la terapia hormonal de reemplazo. Los mismos tuvieron que suspenderse debido al aumento “inesperado” de carcinomas mamarios (8;9). Modelos de investigación.

1) Tumores inducidos por carcinógenos. Entre los varios modelos que se han desarrollado podemos mencionar los tumores inducidos por metilnitrosourea (MNU) y dimetilbenz(a)antraceno (DMBA) en ratas, que son hormono-respondedores y expresan receptores de estrógenos (RE) (10;11). En ratones tanto el MNU (12;13) como el DMBA (14) inducen carcinomas mamarios en animales tratados con progestágenos aunque los tumores inducidos no son hormono-respondedores.

2) Tumores inducidos por la administración de hormonas. Hay muy pocos modelos en los cuales la administración de una hormona lleva a la aparición de carcinomas mamarios. Entre ellos podemos citar al modelo desarrollado en nuestro laboratorio usando progestágenos y al modelo de la cepa ACI de rata en la cual aparecen carcinomas mamarios por administración de estrógenos (15).

3) Tumores asociados a virus oncogénicos. Las cepas endocriadas de ratones como C3H, poseen alta incidencia de tumores mamarios, debido esencialmente a la presencia del retrovirus MMTV (Mouse Mammary Tumor Virus). Los tumores desarrollados por estas cepas suelen ser lobulillares y en general no expresan RE y de progesterona (RP), razón por la cual actualmente no se los considera un modelo óptimo para el estudio de los carcinomas mamarios humanos. Las cepas europeas como la GR, y la variante BALB/c recientemente generada en la Academia Nacional de Medicina (16) generan tumores que expresan RE y RP, pero, a diferencia de los humanos, son dependientes de preñez (17). El poliomavirus se ha utilizado para el desarrollo de carcinomas mamarios ductales en ratones adultos inmunosuprimidos o en neonatos normales (18).

4) Implantes tumorales humanos en animales de laboratorio. Para estos estudios se utilizan ratones atímicos o “nude” (nu/nu), para prevenir el rechazo de los tejidos tumorales humanos o de líneas celulares derivadas de tumores. Las condiciones de cría y cuidado de estos animales son extremadamente costosas.

5) Ratones genéticamente modificados. La investigación con animales transgénicos o knock-out (organismos con una supresión específica de un gen) permite una integración completa del órgano en estudio y sus distintos tipos celulares con el status hormonal y fisiológico del animal. En los últimos quince años, su utilización en el estudio de cáncer de mama humano ha sido documentada en más de cien artículos (19). Podemos citar, entre otros, a ratones modificados en los oncogenes c-myc, v-Ha-ras, c-neu, wnt-1, los genes supresores de tumores p53, BRCA 1 y BRCA 2, y genes de la maquinaria celular como el gen de la ciclina D1. Para lograr especificidad tisular, algunos genes se encuentran bajo el control del promotor de MMTV. Es un excelente modelo in vivo, pero en muchos casos surgen tumores en otros tejidos, no se desarrollaron tumores de mama (como los ratones BRCA 1 +/- y BRCA 2 +/-) o los tumores generados resultaron morfológicamente distintos a los tumores de mama humanos (20).

6) Líneas celulares. Las líneas celulares son valiosos modelos a la hora de analizar ciertos aspectos de la biología celular del cáncer de mama. Sin embargo, células transformadas aisladas creciendo en un frasco de cultivo están sometidas a estímulos distintos a los de células in vivo y esto debe ser tenido en cuenta a la hora de la interpretación de los resultados y al extraer conclusiones. Carecen, entre otros factores, de una verdadera interacción epitelio, estroma y matriz, estructura tisular, respuesta inmune del huésped, exposición a hormonas y a factores ambientales, etc.; y, consecuentemente, pueden diferir del tumor que les dio origen. No obstante, la homogeneidad, reproducibilidad y manipulación ex profeso de las condiciones de cultivo hacen de las líneas celulares buenas herramientas de investigación.

Desde que Lasfargues desarrollara la primera línea celular humana de cáncer de mama en 1958 (21), se han establecido muchas líneas celulares. La línea celular de cáncer de mama por antonomasia es la MCF-7, desarrollada en 1973 a partir de un derrame pleural de un carcinoma de mama humano (22). Además de la MCF-7, las líneas celulares más utilizadas son la T-47D (23) y la ZR-75-1 (24). En los últimos años se han desarrollado nuevas líneas celulares, entre ellas se encuentran las recientemente desarrolladas por la Dra

Isabel Lüthy (Journal of Cell Physiol, en prensa). Un problema vinculado a la investigación con las líneas celulares humanas inoculadas en ratones inmunosuprimidos es que no desarrollan metástasis, a diferencia de los xenotransplantes de tumores humanos (25).

Se han establecido pocas líneas celulares de ratón, la mayoría de las cuales no expresan RE y RP. Entre ellas, podemos citar a la línea BALB/c-MC (26) y MG1361 (27). En la Argentina se han establecido varias líneas celulares de ratón, como la LM3 y la LMM3 (28), la LM2 (29) y las desarrolladas en nuestro laboratorio que sí expresan receptores hormonales (30).

Inducción de carcinomas mamarios por MPA.

En el año 1985 desarrollamos el modelo de inducción de carcinomas mamarios murinos por MPA. Se inocularon ratones hembra BALB/c de dos meses de edad (Bioterio de la Academia Nacional de Medicina) cada tres meses con 40 mg de MPA de depósito (depot) sc en el flanco. Los ratones desarrollaron carcinomas mamarios con una incidencia actuarial de 80% y una latencia de aparición de 52 semanas (31). Como rasgos llamativos de autopsia se observaron hiperplasias glándulo-quísticas y decíduomas uterinos e hipertrofia de las glándulas salivales. En estudios de montajes de glándulas mamarias completas se observaron distorsiones en la arquitectura y grosor de los conductos además de hiperplasia paraductal. Posteriormente en otro esquema de administración usando implantación de pellets de 40 mg con reposición a los seis meses, la incidencia de carcinomas mamarios también fue alta y de histología casi única ductal (32). Como se describirá más adelante, la misma cantidad de progesterona indujo también tumores de mama pero de histología lobulillar.

Receptores hormonales.

Se encontraron RE y RP en todos los carcinomas mamarios ductales (33;34), llegando a valores mayores de 1000 fmoles / mg de proteína para RP y valores de más de 500 fmoles / mg de proteína para RE. El valor de Kd para RP fue del rango de 5-7 nM y para RE: 0.8-10 nM. En todos los tumores estudiados se expresó receptor de prolactina con valores similares a los obtenidos de tumores provenientes de hembras BALB/c multíparas que se utilizaron como controles (Kd: 0.32 nM, rango: 6-27 fmoles / mg de proteína, n=7). Sólo se detectaron receptores de factor de crecimiento epidérmico (R-EGF) en muy bajas cantidades y en algunos casos no fue detectable. Estos receptores se expresaron altamente en tumores lobulillares mamarios también inducidos por MPA o en los tumores de hembras multíparas usadas como control.

Posteriormente encontramos dos sitios receptores de RP por técnicas de unión al ligando, el clásicamente descrito y uno de muy alta afinidad y poca capacidad, ambos desplazables por antiprogestágenos (35).

Dependencia hormonal.

Los tumores se transplantaron con un trocar en el flanco derecho (s.c.) de hembras vírgenes BALB/c. Simultáneamente, los animales recibieron MPA (s.c.) depot (20 mg) en el flanco izquierdo. En todos los pasajes se dejó un animal sin tratamiento como control. Todos los adenocarcinomas mamarios ductales que expresaban receptores hormonales crecieron en ratones tratados con MPA y en los animales sin tratar sólo crecieron luego de dos meses de inoculado el tumor. Para el pasaje siguiente se utilizaron los tumores que crecían en los animales tratados con MPA (36).

Los tumores crecieron muy lentamente luego de dos meses si eran transplantados en ratones sin MPA y luego

de 6-8 meses en ratones ovariectomizados (ovx) (36). Los tumores no crecieron en animales ovx y adrenalectomizados (adx) (37). Por otro lado, los tumores crecieron luego de una semana tanto en ratones tratados con MPA o Pg. El crecimiento tumoral se retrasó en animales ovx tratados con MPA comparado con animales tratados con MPA pero no ovx. Un tumor PD es definido como tal cuando crece en animales tratados con MPA y muy poco, seguido de regresión, en animales sin tratar durante los primeros dos meses de haber sido inoculado.

Modulación de la incidencia tumoral.

Se investigó la habilidad del MPA de inducir tumores mamarios en animales ovx y sialoadenectomizados (sdx) (sin glándulas salivales). Se observó una disminución significativa de la incidencia tumoral mamaria en ambos casos (34). Los tumores que crecieron, mostraron los mismos patrones histológicos y biológicos que los tumores inducidos en hembras intactas. Estudios histológicos mostraron que las glándulas mamarias eran hipoplásicas en animales ovx y sdx sugiriendo que las hormonas ováricas y el EGF de la glándula salival podrían favorecer la carcinogénesis inducida por MPA. El hecho de que la administración exógena de EGF aumentó la hiperplasia inducida por MPA en la glándula mamaria de ratones sdx sugiere que ambos factores podrían coactuar para inducir tumores mamarios (38). Se encontraron niveles altos de EGF sérico en animales tratados con MPA, mientras que niveles similares a los controles se encontraron en los animales sdx y tratados con MPA.

MPA en otras cepas de ratones.

Investigamos si el MPA es capaz de inducir tumores mamarios en otras cepas de ratones. Para esto utilizamos el mismo protocolo usado para inducir tumores mamarios en ratones BALB/c. Con la cepa C57/Bl el experimento no se pudo concluir debido a las ulceraciones en la piel observadas principalmente en los ratones tratados con MPA, pero que también se observaron en ratones controles mayores de 7-8 meses. Durante este período no aparecieron tumores mamarios. En el momento actual se están repitiendo estos experimentos no detectándose tumores luego de un año de tratamiento. En los ratones C3H, se observó un aumento de la incidencia tumoral en los ratones tratados con MPA, aunque marginalmente significativo, ya que en hembras no tratadas ya se observa una alta incidencia de tumores mamarios. Los tumores inducidos por MPA fueron histológica y biológicamente idénticos a los tumores espontáneos observados en esta cepa (36). Estos resultados sugieren que la cepa BALB/c es especialmente adecuada para estudiar carcinogénesis inducida por MPA.

Progesterona vs MPA.

La administración de Pg a ratones hembra BALB/c también indujo adenocarcinomas mamarios (32). La mayoría de los tumores fueron de tipo lobulillar precedidos por lesiones preneoplásicas lobulillares, morfológicamente diferentes de aquellos inducidos por MPA. Solo se observaron 2/9 tumores ductales mamarios.

Variantes hormono-independientes.

Ocasionalmente, algunos tumores PD comienzan a crecer en ratones no tratados. En estos casos, surge una nueva variante PI que es mantenida por trasplantes en ratones no tratados. Para continuar con la línea parental (PD) se utilizan células de pasajes anteriores. Los tumores progestágeno independientes (PI) ductales expresan, al igual que sus parentales, altos niveles de RE y RP y bajos niveles de R-EGF. En contraste a los tumores PI lobulillares que no expresan RE y RP pero sí tienen altos niveles de R-EGF. Los tumores ductales de crecimiento PI pueden ser inhibidos por E2, y/o antiprogestágenos mifepristona (RU 486) y onapristona (ZK 299) mientras que la flutamida (Flu, antiandrógeno) no altera el crecimiento tumoral. Estos resultados sugieren que los receptores esteroides aún siguen participando en el crecimiento tumoral PI. El tamoxifeno fue inhibitorio del crecimiento tumoral aunque no se observó regresión tumoral comparable a la de estrógenos o antiprogestágenos (39). El raloxifeno por otra parte no ejerció efectos inhibitorios del crecimiento tumoral. Existen sin embargo variantes que se vuelven resistentes al tratamiento hormonal y las llamamos tumores progestágeno independientes no respondedores (40).

Estudios de expresión de RP por Western blots (WB) e inmunohistoquímica.

Se demostró la presencia de ambas isoformas de RP, la A y la B, en todos los tumores PD y PI respondedores sin encontrarse diferencias algunas entre ambos tipos de tumores, y una banda inmunoreactiva de 78kDa también observada en carcinomas de mama humanos y de perros cuya función no se conoce. Bandas de peso molecular aproximado de 100 kDa compatibles con la observada por el grupo de Price (41) para RP de membrana también fueron observadas en muestras de extractos totales. Los tumores no respondedores por otro lado mostraron una significativa baja expresión de bandas. Sin embargo, por inmunohistoquímica usando tres anticuerpos diferentes todos los tumores mostraron alta expresión nuclear de RP (40). Curiosamente tampoco encontramos diferencias en el WB cuando se estudian RP fosforilados en ser294. Todos son igualmente inmunoreactivos. Estos resultados sugieren que los tumores PD y PI respondedores no difieren en cuanto a la expresión de RP, en cambio los no respondedores tendrían RP modificados por lo cual son reconocidos por algunas técnicas y no por otras. Resultados preliminares del laboratorio sugieren que siguen siendo funcionales, ya que el bloqueo de los mismos con técnicas “antisentido” inhibió la proliferación celular. Todos los tumores expresan RE alfa por WB sin determinar hasta ahora patrones de expresión en los distintos tumores. No se abordaron estudios de inmunohistoquímica para evaluar la presencia de receptores para glucocorticoides o de andrógenos. Los estudios de binding y de respuesta hormonal sugieren que no participarían en la proliferación celular.

Cultivos primarios.

Para evaluar la acción hormonal directa, se puso a punto una técnica para realizar cultivos primarios de una línea tumoral PD: C4-HD (42). Se obtuvieron cultivos enriquecidos de células epiteliales y de células estromales. Las células epiteliales se reinocularon en ratones BALB/c para evaluar la hormono-dependencia in vivo. Esta nueva línea se llamó CC4-HD y se observó un patrón de crecimiento similar entre las dos líneas tumorales. Pudimos demostrar que in vitro en las células epiteliales:

- a) El MPA estimuló el crecimiento sólo de células epiteliales (citoqueratina positivas). La máxima proliferación se observó tratando a las células con MPA 10 nM (42).
- b) Se obtuvo el mismo resultado tratando a las células con Pg (42).
- c) El crecimiento celular se estimuló con concentraciones 100 veces mayores de DHT y dexametasona que de MPA (42).
- d) E2 inhibió el crecimiento celular en concentraciones mayores de 0.1 nM (39;42).
- e) Tanto E2 como los antiestrógenos tamoxifeno e ICI 182.780 y los antiprogestágenos RU 486 y ZK 299

inhibieron la proliferación celular inducida por MPA (39;42;43).

f) El raloxifeno por otra parte potenció la estimulación inducida por MPA (39).

g) De los factores de crecimiento ensayados: EGF, IGF 1, IGF II, aFGF, bFGF y TGF β 1-3, sólo los FGFs indujeron efectos proliferativos en las células epiteliales mientras que los TGF β s fueron inhibitorios (38;43-45).h) Otros autores demostraron efectos proliferativos con Heregulina y TNF alpha (46).

i) Tratamiento con oligonucleótidos antisentido de RP y antiprogestágenos inhiben la proliferación celular inducida tanto por progestágenos como por FGFs sugiriendo un cross talk entre ambas vías proliferativas. Esta inhibición es específica de las células tumorales (43).

j) Tratamiento con oligonucleótidos antisentido de R-IGF 1 inhibe la proliferación celular (44) pero de manera no específica ya que el mismo efecto se observa en cultivos de fibroblastos estromales estimulados con factores de crecimiento como el EGF.

En cultivos de fibroblastos estromales se demostró que en condiciones experimentales de quiescencia, todos los factores de crecimiento mencionados anteriormente estimularon la proliferación celular. Por otro lado las hormonas esteroideas usadas o los antagonistas hormonales no afectaron la proliferación celular. Solamente el RU 486 ejerció pequeños efectos proliferativos, posiblemente por su efecto antiglucocorticoide. El co-cultivo de células epiteliales y fibroblastoides produce un incremento notable en la proliferación celular. Los mecanismos asociados a esta interacción se están estudiando actualmente. Por otra parte cuando suero obtenido de ratones ovariectomizados y tratados con MPA se utilizó en los experimentos en lugar de suero fetal bovino, demostramos que factores séricos inducidos por MPA estaban potenciando el efecto proliferativo por MPA, sugiriendo que este progestágeno puede actuar junto con otros factores o haciendo a las células más sensibles a el MPA (43).

Desarrollo de líneas celulares.

Para completar un modelo experimental nos pareció de suma importancia desarrollar líneas celulares de nuestros tumores experimentales. En un principio el objetivo era tener líneas que se comportaran de manera similar a los cultivos primarios para poder manipular genes mediante transfecciones y otro tipo de herramientas moleculares. Hemos logrado desarrollar cinco líneas celulares a partir del tumor PD CC4-HD, llamadas MC4-L1 hasta MC4-L5 respectivamente y dos líneas derivadas del tumor PI respondedor C7-2-HI. Estas líneas representan las primeras desarrolladas en cáncer de mama murino que expresan receptores hormonales y por lo tanto pueden ser reguladas por hormonas. Cada línea presenta alguna particularidad. Pudimos observar que las líneas de morfología epiteliode son muy poco respondedoras in vitro a diferencia de las de morfología más fibroblastoide. Por otra parte in vivo el comportamiento es opuesto, las respondedoras in vitro no responden in vivo (30). Las líneas fibroblastoides son menos respondedoras al TGF β . Lo más llamativo resulta que los estrógenos, que eran las hormonas inhibitorias por excelencia, en nuestro modelo experimental estimulan el crecimiento in vitro. Los mecanismos de esta diferencia de respuesta no se conocen.

El modelo MPA como modelo experimental

Desde el punto de vista global este modelo tiene la ventaja que permite el estudio de los procesos de carcinogénesis de la glándula mamaria. Estos experimentos llevan mucho tiempo y deben realizarse con un número grande de animales pero tienen la ventaja que se evalúa la aparición de un tumor en el contexto de un organismo “enfermo”. En este sentido cabe destacarse no sólo el efecto protector de la ovariectomía sino también el de la sialoadenectomía sobre la incidencia de carcinomas mamarios. El hecho de que los tumores son transplantables y progestágeno-dependientes pero que hayan dado origen a variantes hormono-

independientes respondedoras o no al tratamiento hormonal permite por un lado el estudio de los mecanismos asociados a la respuesta proliferativa a hormonas y por otro lado el estudio de los mecanismos involucrados en la transición a la autonomía y resistencia hormonal. Este es uno de los pocos modelos in vivo para este tipo de estudios que son de suma importancia dado que es la problemática más importante no resuelta en cáncer de mama humano.

La posibilidad de contar con cultivos primarios de estroma de los distintos tumores permite el abordaje del estudio de las relaciones parénquima-estroma tumoral.

Por último, si bien el objetivo de desarrollar líneas celulares con la misma respuesta hormonal que los tumores originales no fue lograda ya que en las líneas celulares las respuestas son diferentes, por ejemplo son estimulables por E2, nos hace replantear cómo habrán sido los tumores de las pacientes cuyas líneas celulares establecidas también son estimulables por E2. Además las líneas son muy útiles para estudios de mecanismos particulares y se están usando, como por ejemplo por el Dr Benard de Canadá, para el desarrollo de técnicas de tomografía para detectar metástasis a distancia usando moléculas fluoresceinadas que se unen a receptores estrogénicos.

Como modelo de cáncer humano creemos que este modelo reúne las características más importantes del cáncer humano: histología ductal, capacidad metastásica, transición por distintos estadios de hormono-dependencia, expresión de receptores hormonales, y respuesta al tamoxifeno.

Como enseñanza mayor nos deja la idea de que aún un tumor con p53 mutado (resultados no publicados) y sobre expresión de c-erbB2 (46), dos de los genes involucrados en cáncer de mama humano (y los únicos explorados) es capaz de desaparecer casi completamente si encontramos la llave apropiada, en este caso el receptor de progesterona. Por lo tanto el único camino plausible para controlar la enfermedad será el conocimiento de los mecanismos subyacentes en el control de la proliferación tisular.

Si se tiene en cuenta que recientemente dos estudios realizados en mujeres postmenopáusicas con terapia de reemplazo hormonal combinada revelaron un aumento de cáncer de mama en mujeres bajo tratamiento combinado con MPA, cuyos resultados muchos autores tienden a minimizar, algunos investigadores recomendaríamos la lectura del manual de la IARC de la última reunión científica en Lyon donde el MPA pasó de la categoría de no demostrada actividad carcinogénica a compuesto con demostrada actividad carcinogénica en animales de laboratorio (4).

Referencias

1. Seltzer V 2000 Cancer in women: prevention and early detection. J Womens Health Gend Based Med 9:483-488
2. Newcomb PA, Storer BE, Longnecker MP, Mittendorf R, Greenberg ER, Clapp RW, Burke KP, Willett WC, MacMahon B 1994 Lactation and a reduced risk of premenopausal breast cancer. N Engl J Med 330:81-87
3. Hulka BS, Liu ET, Lininger RA 1994 Steroid hormones and risk of breast cancer. Cancer 74:1111-1124
4. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Humans - Hormonal Contraception and Post-menopausal Hormonal Therapy 1999 IARC Scientific Publications, World Health Organization, Lyon, France.
5. Newcomb PA, Titus-Ernstoff L, Egan KM, Trentham-Dietz A, Baron JA, Storer BE, Willett WC, Stampfer MJ 2002 Postmenopausal estrogen and progestin use in relation to breast cancer risk. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 11:593-600

6. White E, Malone KE, Weiss NS, Daling JR 1994 Breast cancer among young U.S. women in relation to oral contraceptive use. *J Natl Cancer Inst* 86:505-514
7. Breast cancer and hormone replacement therapy: collaborative reanalysis of data from 51 epidemiological studies of 52,705 women with breast cancer and 108,411 women without breast cancer. Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer 1997 *Lancet* 350:1047-1059
8. Women's Health Initiative 2002 Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results From the Women's Health Initiative randomized controlled trial. *JAMA* 288:321-333
9. Beral V 2003 Breast cancer and hormone-replacement therapy in the Million Women Study. *Lancet* 362:419-427
10. Gullino PM, Pettigrew HM, Grantham FH 1975 N-nitrosomethylurea as mammary gland carcinogen in rats. *J Natl Cancer Inst* 54:401-414
11. Russo J, Tay LK, Russo IH 1982 Differentiation of the mammary gland and susceptibility to carcinogenesis. *Breast Cancer Res Treat* 2:5-73
12. Pazos P, Lanari C, Meiss R, Charreau EH, Pasqualini CD 1992 Mammary carcinogenesis induced by N-methyl-N-nitrosourea (MNU) and medroxyprogesterone acetate (MPA) in BALB/c mice. *Breast Cancer Res Treat* 20:133-138
13. Pazos P, Lanari C, Charreau EH, Molinolo AA 1998 Promoter effect of medroxyprogesterone acetate (MPA) in N-methyl-N-nitrosourea (MNU) induced mammary tumors in BALB/c mice. *Carcinogenesis* 19:529-531
14. Aldaz CM, Liao QY, Paladugu A, Rehm S, Wang H 1996 Allelotypic and cytogenetic characterization of chemically induced mouse mammary tumors: high frequency of chromosome 4 loss of heterozygosity at advanced stages of progression. *Mol Carcinog* 17:126-133
15. Harvell DM, Strecker TE, Tochacek M, Xie B, Pennington KL, McComb RD, Roy SK, Shull JD 2000 Rat strain-specific actions of 17 β -estradiol in the mammary gland: correlation between estrogen-induced lobuloalveolar hyperplasia and susceptibility to estrogen-induced mammary cancers. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97:2779-2784
16. Buggiano V, Goldman A, Nepomnaschy I, Bekinschtein P, Berguer P, Lombardi G, Deroche A, Francisco MV, Piazzon I 1999 Characterization of two infectious mouse mammary tumour viruses: superantigenicity and tumorigenicity. *Scand J Immunol* 49:269-277
17. Pathology of tumours in laboratory animals. 1994 International Agency for Research on Cancer, Lyon, France

18. Fluck MM, Haslam SZ 1996 Mammary tumors induced by polyomavirus. *Breast Cancer Res Treat* 39:45-56
19. Hennighausen L 2000 Mouse models for breast cancer. *Oncogene* 19:966-967
20. Cardiff RD 2001 Validity of mouse mammary tumour models for human breast cancer: comparative pathology. *Microsc Res Tech* 52:224-230
21. Lasfargues EY, Ozzello L 1958 Cultivation of Human Breast Carcinomas. *J Natl Cancer Inst* 21:1131-1147
22. Soule HD, Vazquez J, Long A, Albert S, Brennan M 1973 A human cell line from a pleural effusion derived from a breast carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 51:1409-1416
23. Keydar I, Chen L, Karby S, Weiss FR, Delarea J, Radu M, Chaitcik S, Brenner HJ 1979 Establishment and characterization of a cell line of human breast carcinoma origin. *Eur J Cancer* 15:659-670
24. Engel LW, Young NA, Tralka TS, Lippman ME, O'Brien SJ, Joyce MJ 1978 Establishment and characterization of three new continuous cell lines derived from human breast carcinomas. *Cancer Res* 38:3352-3364
25. Amundadottir LT, Merlino G, Dickson RB 1996 Transgenic mouse models of breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 39:119-135
26. Morimoto J, Imai S, Taniguchi Y, Tsubura Y, Hosick HL 1987 Establishment and characterization of a new murine mammary tumor cell line, BALB/c-MC. *In Vitro Cell Dev Biol* 23:755-758
27. Sacco MG, Gribaldo L, Barbieri O, Turchi G, Zucchi I, Collotta A, Bagnasco L, Barone D, Montagna C, Villa A, Marafante E, Vezzoni P 1998 Establishment and characterization of a new mammary adenocarcinoma cell line derived from MMTV neu transgenic mice. *Breast Cancer Res Treat* 47:171-180
28. Alonso DF, Farias EF, Urtreger A, Ladedá V, Vidal MC, Bal DKJ 1996 Characterization of F3II, a sarcomatoid mammary carcinoma cell line originated from a clonal subpopulation of a mouse adenocarcinoma. *J Surg Oncol* 62:288-297
29. Galli S, Colombo L, Daroqui MC, del C, V, Jasnís MA, Sacerdote dL, Eiján AM 2000 Characterization of a fibroblastoid mammary carcinoma cell line (LM2) originated from a mouse adenocarcinoma. *Int J Oncol* 17:1259-1265
30. Lanari C, Luthy I, Lamb CA, Fabris V, Pagano E, Helguero LA, Sanjuan N, Merani S, Molinolo AA 2001 Five novel hormone-responsive cell lines derived from murine mammary ductal carcinomas: in vivo and in vitro effects of estrogens and progestins. *Cancer Res* 61:293-302

31. Lanari C, Molinolo AA, Pasqualini CD 1986 Induction of mammary adenocarcinomas by medroxyprogesterone acetate in BALB/c female mice. *Cancer Lett* 33:215-223
32. Kordon EC, Molinolo AA, Pasqualini CD, Charreau EH, Pazos P, Dran G, Lanari C 1993 Progesterone induction of mammary carcinomas in BALB/c female mice. Correlation between progestin dependence and morphology. *Breast Cancer Res Treat* 28:29-39
33. Molinolo AA, Lanari C, Charreau EH, Sanjuan N, Pasqualini CD 1987 Mouse mammary tumors induced by medroxyprogesterone acetate: immunohistochemistry and hormonal receptors. *J Natl Cancer Inst* 79:1341-1350
34. Kordon EC, Guerra F, Molinolo AA, Charreau EH, Pasqualini CD, Pazos P, Dran G, Lanari C 1994 Effect of sialoadenectomy on medroxyprogesterone-acetate-induced mammary carcinogenesis in BALB/c mice. Correlation between histology and epidermal-growth-factor receptor content. *Int J Cancer* 59:196-203
35. Helguero LA, Lamb C, Molinolo AA, Lanari C 2003 Evidence for two progesterone receptor binding sites in murine mammary carcinomas. *J Steroid Biochem Mol Biol* 84:9-14
36. Lanari C, Kordon E, Molinolo A, Pasqualini CD, Charreau EH 1989 Mammary adenocarcinomas induced by medroxyprogesterone acetate: hormone dependence and EGF receptors of BALB/c in vivo sublines. *Int J Cancer* 43:845-850
37. Montecchia MF, Lamb C, Molinolo AA, Luthy IA, Pazos P, Charreau E, Vanzulli S, Lanari C 1999 Progesterone receptor involvement in independent tumor growth in MPA-induced murine mammary adenocarcinomas. *J Steroid Biochem Mol Biol* 68:11-21
38. Molinolo A, Simian M, Vanzulli S, Pazos P, Lamb C, Lanari C 1998 Involvement of EGF in medroxyprogesterone acetate (MPA)-induced mammary gland hyperplasia and its role in MPA-induced mammary tumors in BALB/c mice. *Cancer Lett* 126:49-57
39. Lamb CA, Helguero LA, Fabris V, Lucas C, Molinolo AA, Lanari C 2003 Differential effects of raloxifene, tamoxifen and fulvestrant on a murine mammary carcinoma. *Breast Cancer Res Treat* 79:25-35
40. Helguero LA, Viegas M, Asaithamby A, Shyamala G, Lanari C, Molinolo AA 2003 Progesterone receptor expression in medroxyprogesterone acetate-induced murine mammary carcinomas and response to endocrine treatment. *Breast Cancer Res Treat* 79:379-390
41. Welter BH, Hansen EL, Saner KJ, Wei Y, Price TM 2003 Membrane-bound progesterone receptor expression in human aortic endothelial cells. *J Histochem Cytochem* 51:1049-1055
42. Dran G, Luthy IA, Molinolo AA, Charreau EH, Pasqualini CD, Lanari C 1995 Effect of medroxyprogesterone acetate (MPA) and serum factors on cell proliferation in primary cultures of an MPA-induced mammary adenocarcinoma. *Breast Cancer Res Treat* 35:173-186

43. Lamb C, Simian M, Molinolo A, Pazos P, Lanari C 1999 Regulation of cell growth of a progestin-dependent murine mammary carcinoma in vitro: progesterone receptor involvement in serum or growth factor-induced cell proliferation. *J Steroid Biochem Mol Biol* 70:133-142
44. Elizalde PV, Lanari C, Molinolo AA, Guerra FK, Balana ME, Simian M, Iribarren AM, Charreau EH 1998 Involvement of insulin-like growth factors-I and -II and their receptors in medroxyprogesterone acetate-induced growth of mouse mammary adenocarcinomas. *J Steroid Biochem Mol Biol* 67:305-317
45. Viegas MH, Salatino M, Goin M, Peters G, Labriola L, Costa dc, Lanari C, Charreau EH, Elizalde PV 1999 Differential expression of and responsiveness to transforming growth factor-beta (TGF-beta) isoforms in hormone-dependent and independent lines of mouse mammary tumors. *Cancer Detect Prev* 23:375-386
46. Balana ME, Lupu R, Labriola L, Charreau EH, Elizalde PV 1999 Interactions between progestins and heregulin (HRG) signaling pathways: HRG acts as mediator of progestins proliferative effects in mouse mammary adenocarcinomas. *Oncogene* 18:6370-6379

Química Viva

ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista Química Viva

Volumen 2, Número 3, Diciembre de 2003

ID artículo:F1023

DOI: no disponible

[Versión online](#)