

HORMONAS EN LA MAMA: DE LA FISIOLÓGÍA A LA ENFERMEDAD. Revisión

Belinda Hómez de Delgado

Unidad de Endocrinología, Hospital Dr. Manuel Noriega Trigo, Maracaibo, Venezuela

RESUMEN

Sobre la glándula mamaria actúan múltiples hormonas involucradas en su desarrollo histológico y su fisiología. Las etapas histológicas del desarrollo de la glándula mamaria permiten entender la relación entre éstas y la aparición de neoplasias mamarias. La siguiente revisión resume los cambios histológicos de la mama y los efectos de las principales hormonas que actúan sobre ella. El equilibrio hormonal es fundamental para el adecuado desarrollo mamario y el mantenimiento de un tejido sano, mientras que un desequilibrio hormonal, podría asociarse con patología benigna y maligna de la mama. A este respecto queda aún mucho por dilucidar.

Palabras claves: Mama, fisiopatología.

ABSTRACT

On the mammary gland act multiple hormones involved in its development and its histological physiology. The histological stages of the mammary gland development help to understand the relationship between them and the occurrence of breast neoplasm. This review summarizes the histological changes of the mammary gland and the effects of the major hormones that act on it. The adequate hormone balance is essential for the proper development and maintenance of a healthy mammary tissue, while a hormonal imbalance could be associated with benign and malignant breast disease. In this regard, much remains to be clarified.

Key words: Breast, pathophysiology.

La glándula mamaria es un órgano blanco sobre el cual actúan múltiples hormonas involucradas en su desarrollo histológico y en su fisiología. El conocimiento de las etapas histológicas del desarrollo de la glándula mamaria permite entender la relación entre éstas y el desarrollo de neoplasias mamarias. La siguiente revisión resume los cambios histológicos que se presentan con el desarrollo mamario y los efectos de las principales hormonas que sobre ella actúan.

EVOLUCIÓN HISTOLÓGICA DE LA GLÁNDULA MAMARIA

En el neonato, la glándula mamaria comienza su formación a partir de la quinta semana de gestación con una invaginación del ectodermo en el mesodermo de la región axilar con lo que se inicia el desarrollo de los conductos mamarios, de manera que en los neonatos, sean varones o hembras, el tejido mamario sólo está formado por los principales conductos galactóforos, quedando en estado de reposo subdesarrollado hasta la pubertad, cuando en las hembras al iniciarse el funcionamiento del eje hipotálamo -hipófisis- ovario, continua el

desarrollo de la glándula con el crecimiento de ductos, alvéolos y estroma que proliferan en forma notoria por la acción de estrógenos y progesterona en conjunto con otras hormonas tróficas como la hormona de crecimiento, la insulina, el cortisol y las hormonas tiroideas para dar origen a un sistema ducto-lobulillar ramificado rodeado de estroma y tejido adiposo. Pero no es sino hasta el momento de la gestación que termina su desarrollo cuando ocurren una serie de cambios en su estructura que permiten que cumpla con su principal función como es la secreción láctea¹. Este sistema ducto-alveolar ramificado presenta diferencias histológicas en las distintas etapas del desarrollo mamario desde la pubertad hasta la gestación, que dan origen a una clasificación de los lóbulos mamarios en 4 tipos:

Lob 1: o virginal, es el que predomina en las nulíparas, caracterizado por ser altamente proliferativo y poco diferenciado.

Lob 2 y Lob 3: se encuentran en estadios en progresión de la madurez del desarrollo mamario donde disminuye la proliferación epitelial y aumenta la diferenciación. Hay un aumento en el número de conductos pero disminuye la celularidad. Estos tipos

Artículo recibido en: Noviembre 2007. **Aceptado para publicación en:** Diciembre 2007.

Dirigir correspondencia a: Dra. Belinda Hómez de Delgado. belindahomez@hotmail.com.

de lóbulos se encuentra en menor cantidad en la nulípara, siendo muy escasos los lob. 3.

Lob 4: se desarrolla únicamente en el embarazo y es el momento en que culmina el desarrollo mamario por la acción conjugada de la prolactina (PRL) y el lactógeno placentario. El epitelio se caracteriza por ser poco proliferativo y altamente diferenciado, con gran cantidad de unidades ducto-lobulillares terminales.

A partir de la 4ta década de la vida, ocurre una especie de involución, donde disminuyen progresivamente los lob 3 y lob 2, hasta que a los 60 años aproximadamente la histología mamaria está conformada casi exclusivamente por lob 1.

Es importante resaltar la relación que se establece entre el grado de diferenciación del tejido mamario con el desarrollo de angiogénesis y la cantidad de receptores para estrógeno y progesterona presente en los mismos; de manera que el lob 1 es menos diferenciado, tiene más angiogénesis y mayor número de receptores esteroideos que el lob 4.

ESTRÓGENOS EN LA GLÁNDULA MAMARIA

En la premenopausia, los ovarios son la fuente predominante de estrógenos séricos y sólo una pequeña proporción proviene de órganos periféricos. En contraste la pequeña producción de estrógenos que ocurre en la mujer post-menopáusica proviene fundamentalmente de la aromatización de andrógenos adrenales y ováricos en tejidos extra gonadales como grasa y músculo; sin embargo, es importante saber que existe una tercera fuente de producción estrogénica que es en la propia glándula mamaria, la mayoría de los estrógenos presentes en los tumores mamarios derivan principalmente de las síntesis de novo en la propia glándula mamaria². De hecho las concentraciones de 17β estradiol ($17\beta E_2$) presentes en los tejidos cancerígenos de mama no se diferencian entre mujeres pre y post menopáusicas, mientras que los niveles de $17\beta E_2$ circulantes son 90% más bajos en la post-menopausia³, confirmando la teoría de la producción local de estrógenos más que el aporte sistémico de estrógenos a la mama.

Este fenómeno se explica por el desarrollado proceso de esteroidogénesis mamaria, en el cual intervienen 3 complejos enzimáticos principales:

Aromatasa: convierte principalmente androstenodiona a estrona, siendo éste el sistema enzimático más importante en la producción estrogénica de novo en la mama y está ubicado en el estroma.

Sulfatasa de estrógenos: hidroliza el sulfato de estrona a estradiol.

17β hidroxiestiroide deshidrogenasa (17β HSD): aunque es una enzima bidireccional convierte estrona a estradiol.

RECEPTOR ESTRÓGENICO

El hecho de que el tejido mamario normal contenga receptores para estrógenos y progesterona, permite apoyar este mecanismo mediado por receptores como el responsable de la acción de las hormonas sobre el desarrollo mamario. A los receptores estrogénicos (RE) se les considera parte de la superfamilia de receptores esteroide-tiroideos; hasta hoy se conocen en humanos 2 tipos, $RE\alpha$ y $RE\beta$, codificados por genes diferentes, ambos son cadenas polipeptídicas simples, similares pero con ciertas diferencias estructurales que les confieren características individuales. Ambos receptores poseen funciones diferentes de acuerdo al tejido donde ejercen su acción.

El $RE\alpha$ se ubica principalmente en las células epiteliales ducto-lobulillares terminales en el epitelio mamario y el $RE\beta$ se encuentra generalmente ubicado en la grasa, estroma y en las células mioepiteliales. Los $RE\alpha$ gobiernan gran parte del desarrollo mamario junto a los receptores de progesterona⁴, por su parte los $RE\beta$ no parecen influir en el crecimiento y proliferación inicial del tejido mamario aunque otros sugieren que sí interviene en la diferenciación terminal del epitelio⁵. En lo que respecta a su presencia en el tejido tumoral, mientras los $RE\alpha$ se encuentran con frecuencia⁶, los $RE\beta$ rara vez, esto ha permitido atribuirle un efecto protector en la proliferación epitelial^{7,8} aunque esto, no está completamente establecido⁹. A pesar del hecho de que los $RE\alpha$ se encuentran en mayor cantidad en los tejidos tumorales, las células que más proliferan son las que tienen menor cantidad de RE ¹⁰. Este hecho se ha tratado de explicar por la participación de una vía indirecta a través de factores de crecimiento y adicionalmente se cree que se requiere una infrarregulación del receptor para que ocurra la proliferación epitelial¹¹. De esta manera también se puede explicar como períodos de máxima proliferación epitelial, tipo la fase lútea del ciclo menstrual, muestren una menor cantidad de RE ¹². Al igual que el resto de los receptores esteroideos, la estructura de los RE está organizada en 6 dominios denominados por letras de la "A" a la "F". La región A/B está localizada en el lado amino-terminal de la proteína y es la región menos conservada entre los distintos receptores nucleares. Este dominio contiene una función de activación de la transcripción genética (Activation Function 1 o AF-1) y varios sitios de fosforilación, que son importantes en el proceso

de activación de la proteína especialmente en los procesos donde el receptor es activado en ausencia de hormona¹³. (Tabla I)

De estos dominios nos interesa resaltar el dominio A/B que posee una fracción de activación de

Tabla I. Dominios del Receptor Estrogénico

Dominio	Función del Dominio	Diferencias de las isoformas α y β
A/B	Contiene una fracción de activación de la transcripción independiente de hormona (AF-1)	Dominio con mayor diferencia en la secuencia de aa.AF-1 tiene mayor actividad en RE α que en RE β
C	Contiene el sitio de unión para DNA y la señal de localización nuclear (NLS)	–
D	Involucrada en la represión de la transcripción mediada por esteroides.	–
E	Contiene una segunda fracción de activación (AF-2) dependiente de hormona. Unión Hormonal Unión Cofactor Dimerización	Algunas divergencias sin diferencia en AF-2
F	Desconocida	–

transcripción independiente de hormonas y el dominio E que contiene una segunda fracción de activación de la transcripción que es hormona dependiente y es donde se produce clásicamente la unión del estrógeno con el receptor.

ACTIVACIÓN DEL RECEPTOR

Vía genómica: las hormonas circulantes, una vez liberadas de la proteína transportadora, difunden pasivamente a las células. El RE, sintetizado en el protoplasma, se encuentra en forma inactiva, unido a proteínas; al acoplarse la molécula del ligando con el RE se forma el complejo ligando-RE (Clg-RE), el cual dimeriza, cambio necesario para la unión del Clg-RE con el ADN. El Clg-RE se une a la secuencia correspondiente del ADN para formar el elemento de respuesta estrogénica (ERE) permitiendo la acción de proteínas co-reguladoras (activadoras o supresoras) de la función de transcripción y síntesis proteica¹⁴.

La mayoría de las sustancias estudiadas como ligandos del RE se unen con afinidad similar a los RE α y β , lo que se explica por su alta homología; sin embargo, algunos fitoestrógenos como la genisteína y contaminantes ambientales como los alkilfenoles tienen mucha mayor afinidad por el RE β que por el

RE α y por ende se esperarían respuestas tisulares diferentes a la clásicamente descrita para los RE α . El mecanismo de acción de los estrógenos por vía genómica puede alterarse a varios niveles impidiendo la transcripción. Entre ellos podemos mencionar los antagonistas puros de los estrógenos que actúan impidiendo el proceso de dimerización. Otra forma de alterar el proceso de transcripción de los estrógenos es el mecanismo mediante el cual actúan los SERMs (Moduladores Selectivos de la Acción de los Estrógenos). La unión del RE con el ligando requiere una exquisita precisión, de manera que cambios mínimos en la estructura del ligando resultan en diferencias funcionales significativas; así tenemos que un ligando puede dar una determinada conformación espacial al complejo Clg RE que determina la unión a co-activadores o a co-represores, por este mecanismo se explica la acción anti-estrogénica de los SERMs ya que además de bloquear competitivamente a los estrógenos impide la función del ERE por imposibilitar la acción de las proteínas co-activadoras. La posible explicación para actuar como agonista estrogénico en otros tejidos es la capacidad para activar la vía alterna AF-1 ubicada en el dominio AB del receptor.

Vía no genómica: además del mecanismo de acción a través de receptores nucleares determinantes de acciones genómicas, hoy se conocen hechos que apoyan la existencia de RE de membrana capaces de iniciar reacciones moleculares por una vía no genómica. El modo de acción “no-genómico” del estrógeno y en general de todas las hormonas esteroideas es un proceso rápido, que ocurre en unos pocos segundos o minutos y no requiere de los procesos de transcripción y síntesis de nuevas proteínas, para poder producir su efecto primario, por esta razón debe ser mediado por un receptor localizado en la membrana. Son ejemplo de señales estrogénicas por vía no genómica la activación de la MAPK, la cinasa regulada por estímulos extracelulares (ERK) y la sintetasa del óxido nítrico. *Independiente de ligando:* Los RE pueden ser activados por la acción de reguladores de la fosforilación como son las proteincinasas A y C y algunas señales extracelulares como los factores de crecimiento: epidérmico (EGF), transformante β ((IGF β)), insulínico (IGF-1); citoquinas, interleucinas; neurotransmisores y reguladores del ciclo celular. Muchos de ellos son capaces de promover el crecimiento de las células cancerosas mamarias a través de la activación del RE por mecanismos no dependiente de hormona e insensible al tamoxifeno. Sobre esta base se están desarrollando nuevas drogas anticancerosas dirigidas contra lesiones moleculares

específicas con la esperanza de mayor tasa de cura y menor toxicidad a las células normales.

PROGESTERONA EN LA GLÁNDULA MAMARIA

Los cambios proliferativos en la mama femenina premenopáusica son controlados principalmente por los estrógenos y la progesterona, otras hormonas, como la prolactina y los factores de crecimiento también ejercen un rol importante. Sabemos que la actividad mitótica en las mamas es máxima durante la fase lútea, que como es bien sabido está dominada por la progesterona del cuerpo lúteo. Prácticamente en todos los mamíferos la progesterona es el principal estímulo hormonal para el crecimiento y diferenciación de las mamas. En la menopausia, donde la concentración de estrógenos es muy baja y los de progesterona ausente, la actividad mitótica es muy baja¹⁵.

También se ha demostrado que el efecto de la administración de progestágenos en forma cíclica o continua sobre la mama es diferente. Los estudios de Groshong y cols¹⁶, en células mamarias in vitro, mostraron que los progestágenos administrados en forma cíclica aumentan la síntesis de DNA y la progresión del ciclo celular, mientras que las células son inhibidas durante la administración continua. Estudios realizados en tejido mamario adyacente a fibroadenomas^{17,18}, han demostrado que la progesterona tiene efecto anti-estrogénico ya que disminuye el número de RE y aumenta la actividad de la 17 β HSD en dirección que cataliza la conversión de estradiol a estrona.

El desequilibrio de las hormonas se ha asociado a desórdenes mamarios benignos (mastodinea y enfermedad mamaria fibroquística) y malignos; al respecto merece hacer mención el estudio de Beatson¹⁹, en 1896 cuando informó sobre los beneficios de la ooforectomía en el cáncer avanzado de mama en las mujeres premenopáusicas. Varios mecanismos han sido considerados responsables de los efectos carcino-genéticos de los estrógenos. Estudios experimentales²⁰ y clínicos, muestran que el riesgo a presentar cáncer de mama estaba incrementado en las usuarias de la combinación estrógeno/progesterona^{21,22}. Sin embargo, el efecto de la progesterona sobre la mama es controversial, pues mientras algunos trabajos muestran aumento de la proliferación epitelial e incremento del riesgo de cáncer mamario, otros estudios reportan disminución de la proliferación epitelial^{23,24} y del riesgo de cáncer^{25,26} y un tercer grupo de investigadores²⁷ no le atribuyen a la progesterona influencia en la proliferación epitelial ni en el riesgo

de cáncer de mama. Las discrepancias observadas son probablemente debidas al hecho de que los diversos progestágenos utilizados, tienen propiedades farmacológicas y farmacocinéticas diferentes, por lo que sus efectos biológicos no son equiparables.

ANDRÓGENOS EN LA GLÁNDULA MAMARIA

Algunos datos clínicos en humanos muestran una estrecha relación entre la presencia de receptores androgénicos (RA), RE y la intensidad de la proliferación epitelial mamaria. En atletas y transexuales, que reciben andrógenos, hay atrofia mamaria²⁸. El bloqueo de los RA en hombres se asocia con aumento del riesgo de cáncer de mama y el tratamiento con andrógenos ha sido de utilidad en estos tumores²⁹. Las variantes hipoactivas del RA y mutaciones del BRCA-1 en mujeres muestran un riesgo incrementado de cáncer de mama³⁰. Algunos estudios señalan el efecto protector de la proliferación epitelial a los RA hiperactivos³¹. Estos hallazgos clínicos coinciden con los resultados de un estudio experimental reciente. En monas, con función ovárica cíclica, la administración de un antiandrógeno duplicaba la proliferación epitelial mamaria al igual que sucedía cuando se administraba estrógeno/progesterona en monas ovariectomizadas, en cambio, la combinación estrógeno/andrógeno no producía el mismo efecto³². Aun cuando la mayor parte de los resultados sugieren que el efecto de los andrógenos en la mama es antiproliferativo, algunos han obtenido un aumento de la proliferación en cáncer de mama RE(+) causado por DHEAS³³.

INSULINA EN LA GLÁNDULA MAMARIA

Los estudios clínicos han mostrado una asociación muy consistente entre el sobrepeso, en especial la distribución de la grasa, y un aumento en el riesgo de cáncer de mama³⁴. Aunque en la premenopausia este incremento del riesgo, es discutido, en la postmenopausia el riesgo aumenta en un 40%³⁵.

El incremento de la grasa corporal, favorece la insulinoresistencia (IR) además de la producción de estrógenos, como resultado de la aromatización periférica de los andrógenos. La hiperinsulinemia compensadora, presente en la IR, sería capaz de sobre estimular la producción de hormonas ováricas y adrenales, así como la proliferación de células tumorales mamarias por aumentar la actividad de la vía MAPK a través de señales extracelulares, lo que podría explicar las asociaciones encontradas entre obesidad y cáncer de mama^{36,37}. Por otra parte

siendo la estructura de la insulina similar a la del factor de crecimiento IGF₁, ésta, por afinidad, estimula el receptor IGF₁ presente en las células mamarias y como resultado se originan los conocidos efectos mitogénico, mutagénico, antiapoptótico y estimulante de la aromatasas que explicarían la correlación observada entre niveles circulantes de IGF₁ y el riesgo y progresión del cáncer de mama^{38,39}. También se ha observado que la hiperinsulinemia va asociada con una disminución de la proteína transportadora de hormonas esteroideas (SHBG), lo cual aumenta la concentración de estradiol y testosterona libre, disponibles para actuar en el tejido mamario. En síntesis, los mecanismos a través de los cuales la hiperinsulinemia compensadora presente en la IR estimulan la proliferación epitelial son: 1. La Vía MAPK. 2. Estimulando los receptores IGF₁. 3. Aumentado estradiol y testosterona libre, por disminución de la SHBG.

PROLACTINA EN LA GLÁNDULA MAMARIA

Hormona directamente implicada en la fisiología de la mama. La prolactina (PRL) es la principal responsable de la producción láctea, incrementando a nivel celular la transcripción del mRNA para la síntesis de las proteínas lácteas, como la caseína. Su función requiere de la acción conjunta de otras hormonas lactogénicas como el lactógeno placentario y la hormona de crecimiento placentaria. Además, factores de crecimiento, tales como el TGF- β y FGF, intervienen como facilitadores entre la acción mitogénica del estradiol y el lactotro⁴⁰. Otras hormonas como las tiroideas también son requeridas para la adecuada función de la PRL. El neuropéptido cerebral galanina, ha mostrado un potente efecto lactotrófico en roedores⁴¹, pero no se conoce aún el rol que desempeña en la lactación humana. La galactopoyesis es una función fundamental de la oxitocina y secundariamente de la vasopresina en respuesta al conocido reflejo neurohormonal eyecto lácteo.

La PRL, fundamentalmente es producida en la adenohipofisis, pero también es sintetizada "in situ" en la glándula mamaria⁴² y secretada en la leche; en la que parece desempeñar funciones inmunológicas⁴³. También se ha reportado secreción de PRL en quistes y tumores malignos de mama⁴⁴ y en endometrio, testículos, sistema inmune, en los que sus acciones aún quedan por definir⁴⁵.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Russo J, Russo IH. Development of human mammary gland. En: Neville MC, Daniel CW ed. The mammary

gland development, regulation and function. New York Plenum Press. 1987: 67-93.

2. Yun FH, Russo IH, Rosso JJ. Estrogen and Human Breast Cancer. En: The Handbook of Environmental Chemistry Vol 3 Part M. Endocrine disruptors Part II. Eds M Metzler. Edit SP Veriag, Berlin, Hudelberg, 2002: 1-25.
3. Van Landeghem A, Poortman J, Nabuurs M and Thijssen J. Endogenous concentration and subcellular distribution of estrogens in normal and malignant human breast tissue. *Cancer Res* 1985;45:2900-2907.
4. Mueller S.O, Clark J.A, Myers F.H, Korach K.S, Mammary gland development in adult mice requires epithelial and stromal estrogens receptor alpha. *Endocrinology* 2002;143: 2357-2365.
5. Forster C, Makela S, Warri A, Kietz S, Becker D, Hultenby K. Involvement of estrogen receptor beta in terminal differentiation of mammary gland epithelium. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99:15578-15583.
6. Hayashi SI, Imai K, Suga K, Kuriara T, Higashi Y, Nakachi K. Two promoters in expression of estrogen receptor messenger RNA in human breast cancer. *Carcinogenesis* 1997; 18: 459-464.
7. Ornato Y, Inoue S, Ogawa S, Toyama T, Yamashita H, Muramatsu M, Kobayashi S, Iwase H. Clinical value of the wild-type estrogen receptor beta expression in breast cancer. *Cancer Lett* 2001; 163:207-212.
8. Roger P, Salha ME, Makela S, Gustaffson JA, Baldet P, Rochefort H. Decrease expression of estrogen receptor beta protein in proliferative preinvasive mammary tumours. *Cancer Res* 2001;61:2537-2541.
9. Speirs V, Malone C, Walton DS, Kerin MJ, Atkin SL. Increased expression of estrogen receptor beta mRNA in tamoxifen-resistant breast cancer patients. *Cancer Res* 1999; 59:5421-5424.
10. Jensen EV, Cheng G, Palmieri C, Saji S, Makela S, van Noorden S, Wahlstrom T, Warner M, Combes, R.C. Gustaffson JA, Estrogens receptor and proliferation markers in primary and recurrent breast cancer. 2001;98:15197-15202.
11. Palmieri C, Cheng GJ, Saji S, Zelada-Hedman M, Warri A, Weihua Z. Estrogen receptor beta in breast cancer. *Endocr Rel Cancer* 2002;9:1-13.
12. Saji S, Jensen EV, Nilsson S, Rilander T, Warner M, Gustafsson JA. Estrogen receptor alpha and beta in the rodent mammary gland. *PNAS* 1997;91:337-342.
13. Ruff M, Gangloff M, Wurtz JM, Moras D. Estrogen receptor transcription and transactivation: structure-function relationship in DNA and ligand-binding domains of estrogens receptors. *Breast Cancer Res* 2002; 2:353-359.
14. Diez-Perez A. Selective estrogen receptor modulators (SERMs). *Arq Bras Endocrinol Metab* 2006;50:720-734.
15. Potten, C.S. The effect of age and menstrual cycle upon proliferative activity of the normal human breast. *Br J Cancer* 1988;58:163-170.
16. Vering A, Vockel A, Stegmuller M, Bender HG. Immuno-biochemical assay for determination of

- nuclear steroid receptors during tamoxifen therapy. *J Cancer Res Clin Oncol* 1993; 119:415-420.
17. Kutten F, Fournier S, Durand JC, Mauvais-Jarvis P. Estradiol and progesterone receptors in human breast fibroadenomas. *J Clin Endocrinol Metab* 1981;52:1225-1229.
 18. Fournier S, Kuttent F, de Cicco F, Baudot N, Malet C, Mauvais-Jarvis P. Estradiol 17-hydroxysteroid dehydrogenase activity in human breast fibroadenomas. *J Clin Endocrinol Metab* 1982;55:428-433.
 19. Beatson GT. On the treatment of inoperable cases of the mamma: Suggestions for a new method of treatment with illustrative cases. *Lancet* 1896;2:104-107.
 20. Key TJ, Pike MC. The role of oestrogens and progestagens in the epidemiology and prevention of breast cancer. *Eur J Cancer Clin Oncol* 1988;24:29-43 .
 21. WHI Writing Group for the Women's Health Initiative Investigators. *JAMA*, 2002; 288:321-333.
 22. Li CI, Malone KE, Porter PL. Relationship between menopausal hormone therapy and risk of ductal, lobular, and ductal-lobular breast carcinomas. *Cancer epidemiol Biomarkers Prev* 2008; 17: 43-50
 23. Chang KJ, Lee TT, Linarez-Cruz, G. Fournier S, de Ligni eres B. Influences of percutaneous administration of estradiol and progesterone on human breast epithelial cell cycle in vivo. *Fertil Steril* 1995;63:785-791.
 24. Going JJ, Anderson TJ, Battersby S, Macintyre CC. Proliferative and secretory activity in human breast during natural and artificial menstrual cycles. *Am J Pathol* 1988;130:193-204.
 25. Stanford JL, Weiss NS, Voigt LF, Daling JR, Habel LA, Rossing MA. Combined estrogen and progestin hormone replacement therapy in relation to risk of breast cancer in middle-aged women. *JAMA* 1995;274:137-142.
 26. Gambrell, R.D. Use of progestagen therapy. *Am J Obstet Gynecol* 1987;156:1304-1313.
 27. Hankinson SE, Hunter DJ, Willett WC, Manson JE, Stampfer MJ, Hennekens C, Rosner B, Speizer FE. The use of estrogens and progestins and the risk of breast cancer in postmenopausal women. *N Engl J Med* 1995;332:1589-1593.
 28. Burgess, H.E Shousha, S. An immunohistochemical study of the long-term effects of androgen administration on female-to-male transsexual breast: a comparison with normal female breast and male breast showing gynecomastia. *J Pathol* 1993;170:37-43.
 29. Labrie F, Simard J, de Launoy Y. Androgens and breast cancer. *Cancer Detect Prev* 1992;16:31-38.
 30. Rebbeck T; Kantoff TP; Krithivas K; Neuhausen S; Blackwood MA; Godwin AK; Daly MB; Narod SA; Garber J; Lynch H; Weber B and Brown M. Modification of BRCA1-associated breast cancer risk by polymorphic androgen receptor CAG repeat. *Am J Hum Genet* 1999;64:1371-1377.
 31. Giguere Y; Dewailly E; Brisson J; Ayotte P ; Laflamme N; Demers A; Forest V; Dodin S; Robert J; Rousseau F ; Short polyglutamine tracts in the androgen receptor are protective against breast cancer in the general population. *Cancer Res* 2001;61:5869-5874.
 32. Dimitrakakis, C; Zhou, J; Wang, J; Belanger, A; LaBrie, F; Cheng, C; Powell, D; Bondy, C. A physiologic role for testosterone in limiting estrogenic stimulation of the breast. *Menopause* 2003;10:292-298.
 33. Calhoun K E., Pommier E F, Muller P, Fletcher W S, Toth-Fejel S. Dehydroepiandrosterone-sulphate cause's proliferation of estrogen receptor-positive breast cancer cells despite treatment with fulvestrant. *Arch Surg* 2003;138:879-883.
 34. Yu H, Rohan T. Role of the Insuline-like Growth Factor Family in Cancer Development and Progression. *J Natl Cancer Inst* 2000;92:1472-1489.
 35. Stoll, B.A. Upper abdominal obesity insulin resistance and breast cancer risk. *Intern J Obesity* 2002;26:747-753.
 36. Xu J, Keeton AB, Franklin JL, Li X, Venable DJ, Frank SJ, and Messina JL. Insulin enhances growth hormone induction of the MEK/ERK signaling pathway. *J Biol Chem* 2006;281: 982-992.
 37. Reeves GK, Pirie K, Beral V, Green J, Spencer E, Bull D. For the Million Women Study Collaboration. Cancer incidence and mortality in relation to body mass index in the Million Women Study: cohort study. *BMJ* 2007; 335: 1107-1108
 38. Bianchini F, Kaaks R, Vainio H. Overweight, obesity and cancer risk. *Lancet Oncol* 2002;3:565-574.
 39. Hankinson SE, Willett WC, Colditz GA, Hunter DJ, Michaud DS, Deroo B, Rosner B, Speizer FE, Pollak M. Circulating concentrations of insulin-like growth factor-I and risk of breast cancer. *Lancet* 1998 :351: 1393-1396.
 40. Hentges S, Sarkar DK. Transforming growth factor-beta regulation of estradiol induced prolactinomas. *Front Neuroendocrinol* 2001;22:340-363.
 41. Cunningham MJ, Krasnow SM, Gevers EF, Chen P, Thompson CK, Robinson IC. Regulation of galanin-like peptide gene expression by pituitary hormones and theirs downstream targets. *J Neuroendocrinol* 2004;16:10-18.
 42. Speroff L, Glass RH, Kase N G. *En Clinical Gynecology Endocrinology and Infertility*. 3^o edici on. Baltimore: Williams y Wilkins; 1983. pp: 247-274
 43. Ben-Jonathan, NeMershon J L, Allen DL. Extrapituitary prolactin: distribution, regulation, functions and clinical aspects. *Endocrinol Rev* 1997; 17:639-645.
 44. Ginsburg E, Vonderhaan BK. Prolactin synthesis and secretion by human breast cancer. *Cell* 1995; 55:2591-2594.
 45. Vel squez, N, Fern ndez M. Secresi on extrahipofisaria de prolactina. *Rev Obstet Ginecol Venez.* 2004;64:23-31.