

Received: 2010.01.28
Accepted: 2010.04.23
Published: 2010.05.19

Intrakrynologia estrogenów a terapia i chemioprewencja w nowotworach piersi*

Estrogen intracrinology: therapy and chemoprevention of breast cancer

Barbara Licznerska, Wanda Baer-Dubowska

Katedra Biochemii Farmaceutycznej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu

Streszczenie

Nowotwór piersi dotyka średnio jedną na dziesięć kobiet i jest jedną z głównych przyczyn zgonów wśród kobiet w wieku 40–50 lat w krajach rozwiniętych. WHO wymienia estrogeny jako jedne z ważniejszych czynników sprzyjających rozwojowi nowotworów piersi. Estrogeny mogą nie tylko promować rozwój nowotworów poprzez stymulację proliferacji, zmiany różnicowania i ekspresji genów, ale także inicjować proces kancerogenezy za pośrednictwem reaktywnych metabolitów. Stosowane obecnie metody terapeutyczne i profilaktyczne (np. tamoksyfen) skierowane są głównie na receptory estrogenowe (ER) i stąd brak ich skuteczności w odniesieniu do estrogenoniezależnych przypadków nowotworu piersi. Ciągłe trwają intensywne poszukiwania środków leczniczych i chemioprewencyjnych działających niezależnie od statusu ER, a co za tym idzie aktywnych również w przypadkach estrogenoniezależnych tego nowotworu. U kobiet po menopauzie zmienia się profil wytwarzania aktywnych estrogenów z gonadalnego na lokalny a tym samym mechanizm działania hormonów z endokrynnego na intrakrynnego. Aktywne estrogeny są tu lokalnie wytwarzane np. w tkance tłuszczowej czy tkance nowotworu piersi. Ingerencja w lokalną syntezę estrogenów w tkankach obwodowych (m.in. w tkance nowotworu gruczołu piersiowego) wydaje się odpowiednią alternatywą zarówno w chemioterapii, jak i chemioprewencji nowotworu piersi. W pracy przedstawiono charakterystykę głównych enzymów (aromatazy, sulfatazy i dehydrogenazy 17 β -hydroksysteroidowej) zaangażowanych w biosyntezę estrogenów w gruczole piersiowym i możliwości ich wykorzystania jako cel terapii i chemioprewencji.

Słowa kluczowe:

nowotwór piersi • intrakrynologia • aromataza • sulfataza • dehydrogenaza 17 β -hydroksysteroidowa • chemioprewencja • *Brassicaceae*

Summary

Breast cancer affects approximately 1 in 10 women and is the leading cause of death in females between the ages of 40 and 50 years in the Western world. The World Health Organization (WHO) classified estrogens as carcinogenic in humans and one of the most important risk factors of breast cancer. One of the main arguments has been that estrogens can not only promote cancers but may also initiate mutations caused by certain estrogen metabolites. Therapeutics and chemopreventive agents (e.g. tamoxifen) currently in use for breast cancer generally act through an estrogen receptor (ER) mechanism and are thus inappropriate for estrogen-independent disease. In the last decade, numerous studies have searched for new therapeutic and preventive agents acting independently of ER status, hence suitable for cases of estrogen-independent breast cancer. In postmenopausal women, when gonads stop producing estrogens, active hormones

* Praca finansowana ze środków MNiSW projekt nr N 405 3390 33.



are produced locally. These locally produced bioactive estrogens exert their actions in the cells of tissues that have not been considered classical hormone-producing sites (i.e. breast cancer tissue) and where synthesis occurs without release into the circulation. This mechanism has been termed “intracrinology”, a phenomenon different from the classical concept of endocrinology. Interference in the local production of estrogens seems to be a good alternative to chemotherapy and chemoprevention of breast carcinoma. In this article, crucial enzymes in estrogen’s biosynthesis in the breast and their potential use in therapy and chemoprevention are discussed.

Key words: breast cancer • intracrinology • aromatase • sulfatase • 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase • chemoprevention • Brassicaceae

Full-text PDF: <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=910464>

Word count: 4123

Tables: –

Figures: 3

References: 121

Adres autorki: mgr Barbara Licznarska, Katedra Biochemii Farmaceutycznej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu, ul. Święcickiego 4, 60-781 Poznań; e-mail: barlicz@ump.edu.pl

Wykaz skrótów: **2-MeOE₂** – 2-metoksyestradiol; **4-OHE₂-N³-Ade** – 4-hydroksyestradiol-1(α , β)-N³-adenina; **4-OHE₂-N⁷-Gua** – 4-hydroksyestradiol-1(α , β)-N⁷-guanina; **17 β HSD** – dehydrogenaza 17 β -hydroksysteroidowa; **AhR** – receptor wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych; **ART** – aromataza; **ASD** – androstendion; **COX** – cyklooksygenaza; **DHEA** – dehydroepiandrosteron; **DIM** – 3,3'-diindolometan; **E₁** – estron; **E₂** – 17 β -estradiol; **E₂-3,4-Q** – 3,4-chinon estradiolu; **ER** – receptor estrogenowy; **ER(+)** – estrogenozależny; **ER(-)** – estrogenoniezależny; **E₁S** – siarczan estronu; **EGF** – naskórkowy czynnik wzrostu (epidermal growth factor); **EST** – sulfotransferaza; **IGF** – insulinopodobny czynnik wzrostu (insulin-like growth factor); **I3C** – indolo-3-karbinol; **IL** – interleukina; **ITC** – izotiocyjaniiny; **KGF** – czynnik wzrostu keratynocytów (keratinocytes growth factor); **LIF** – czynniki hamujące białaczkę (limfoma inhibition factor); **PGE** – prostaglandyna E; **PPAR γ** – receptory aktywowane proliferatorem peroksysomów gamma (peroxisome proliferator-activated receptor gamma); **PST** – sulfotransferaza fenolowa; **RXR** – receptor dla retinoidów (retinoid X receptor); **SERM** – selektywne modulatory receptorów estrogenowych; **SUL** – sulforafan; **STS** – sulfataza; **TGF** – transformujący czynnik wzrostu (transforming growth factor); **TNF** – czynniki martwicy nowotworu (tumor necrosis factor).

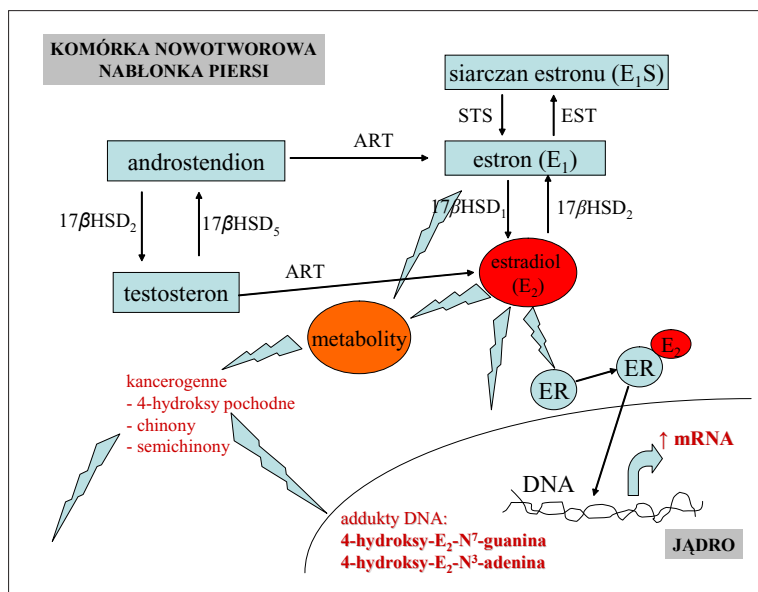
WPROWADZENIE

W populacji kobiet krajów uprzemysłowionych, w tym również w Polsce, nowotwór gruczołu piersiowego jest najczęściej diagnozowaną chorobą nowotworową. Dane szacunkowe na rok 2009 mówią o ponad 190 tys. zdiagnozowanych nowych przypadków nowotworu piersi i ponad 40 tys. zgonów spowodowanych tą chorobą w samych Stanach Zjednoczonych [73]. Postępy w tzw. terapii celowanej zaowocowały opracowaniem skutecznych metod zapobiegania i leczenia. Wiąże się to z zastosowaniem przede wszystkim selektywnych modulatorów receptorów estrogenowych (SERM). Związki te są jednak skuteczne tylko w odniesieniu do estrogenozależnych, ER(+) nowotworów piersi. Prawie 30% wszystkich przypadków nowotworów gruczołu piersiowego stanowią jednak znacznie agresywniejsze nowotwory estrogenoniezależne, ER(-). Z tego względu inhibicja *in situ* głównych enzymów biosyntezy estrogenów, uznanych za podstawowy czynnik ryzyka w etiopatogenezie nowotworu gruczołu piersiowego, wydaje się bardziej obiecująca dzięki możliwości jej zastosowania w obydwu

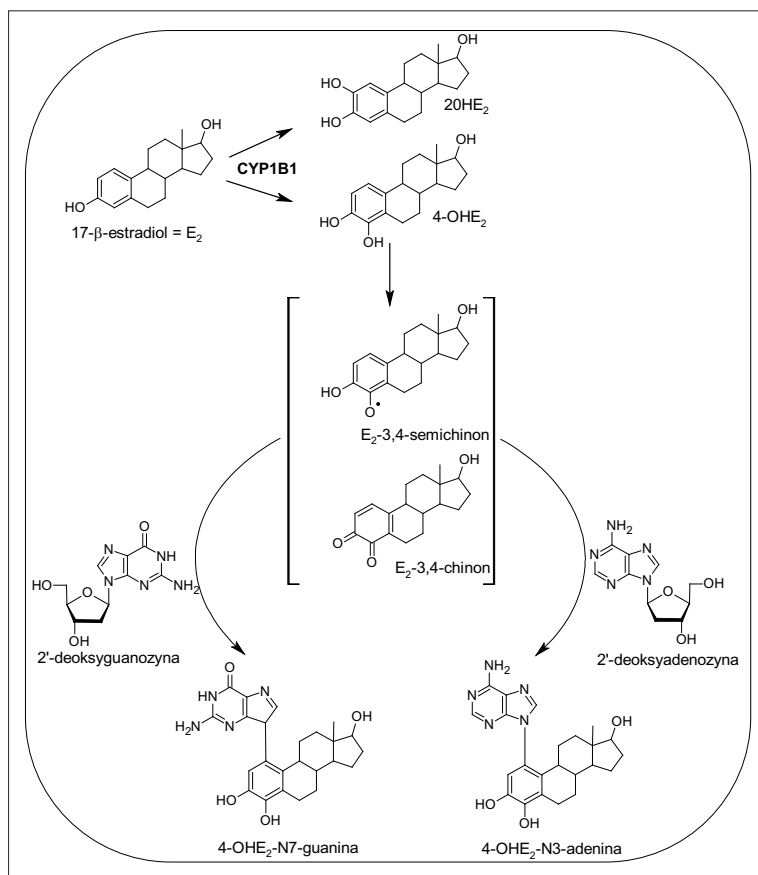
postaciach nowotworu zarówno ER(+) jak i ER(-). Co więcej stwierdzenie, że w rozwoju hormonozależnych nowotworów istotniejsze znaczenie może mieć wytwarzanie aktywnych estrogenów w miejscu ich działania, przyczyniło się do zrewidowania klasycznej koncepcji endokrynologii i pojawienia się nowego terminu – intrakrynologii [93]. Omówiono tu charakterystykę wybranych enzymów biorących udział w syntezie estrogenów w kontekście ich wykorzystania w chemioprewencji i leczeniu nowotworów piersi.

ROLA ESTROGENÓW W PATOGENEZIE NOWOTWORÓW GRUCZOŁU PIERSIOWEGO

Etiopatogeneza nowotworu gruczołu piersiowego jest niezwykle złożona. Za jeden z głównych czynników ryzyka, wskazywanym również przez WHO, uważane są estrogeny [35]. Podstawowym argumentem przemawiającym za tą tezą jest to, że estrogeny mogą nie tylko promować rozwój nowotworów poprzez stymulację proliferacji, zmiany różnicowania i ekspresji genów, ale także inicjować proces kancerogenezy za pośrednictwem reaktywnych metabolitów



Ryc. 1. Proponowany mechanizm działania estrogenów w etiopatogenezie nowotworu piersi (17βHSD₁ – dehydrogenaza 17β-hydroksysteroidowa typu 1, 17βHSD₂ – dehydrogenaza 17β-hydroksysteroidowa typu 2, 17βHSD₅ – dehydrogenaza 17β-hydroksysteroidowa typu 5, ART – aromataza; ER – receptor estrogenowy; EST – sulfotransferaza estrogenowa; STS – sulfataza steroidowa)



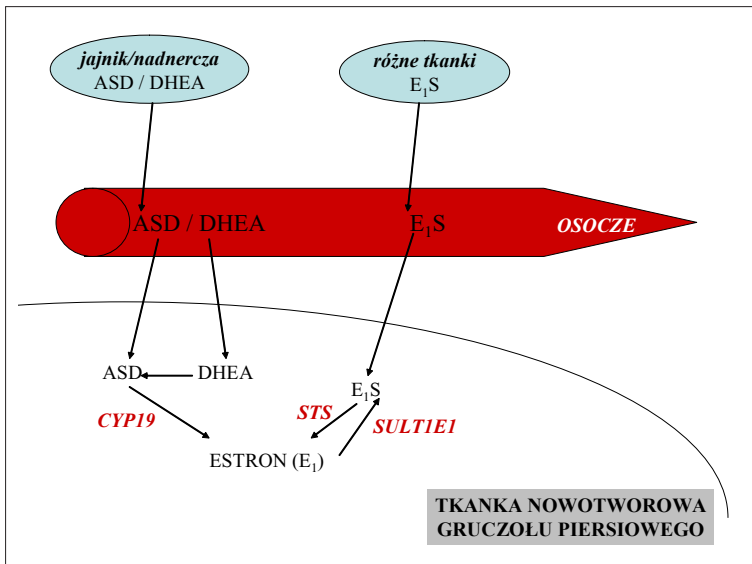
Ryc. 2. Mechanizm tworzenia adduktów DNA w tkance gruczołu piersiowego przez metabolity estrogenów tworzących się na skutek działania enzymu CYP1B1

[12,46,63,118]. Te ostatnie powstają w wyniku aktywacji metabolicznej zachodzącej za pośrednictwem cytochromu P450. Reaktywne formy estrogenów mogą uszkadzać DNA tworząc addukty i w ten sposób inicjować proces kancerogenezy w gruczole piersiowym. Mechanizm tworzenia adduktów z DNA przez estrogeny nie jest jeszcze całkowicie wyjaśniony. Istotne wydaje się to, że estrogeny, takie jak 17β-estradiol (E₂) w przeciwieństwie do pozostałych

hormonów steroidowych mają aromatyczny pierścień A, który w wyniku utleniania może tworzyć katechole (katecholoestrogeny: 2-hydroksy-E₂ i 4-hydroksy-E₂), a te z kolei w wyniku dalszego utleniania przekształcane są w wysoce reaktywne semichinony i chinony [8] (ryc. 1 i 2).

Niestabilne chinony np. 3,4-chinon estradiolu (E₂-3,4-Q) mogą atakować DNA i w wyniku reakcji addycji Michaela





Ryc. 3. Intrakryny mechanizm powstawania aktywnych estrogenów w tkance nowotworowej gruczołu sutkowego z udziałem najważniejszych genów (ASD – androstendion, DHEA – dehydroepiandrosteron, E₁S – siarczan estronu, E₁ – estron, CYP19 – gen aromatazy, STS – gen sulfatazy steroidowej, SULT1E1 – gen sulfotransferazy estrogenowej)

tworzyć addukty takie jak 4-hydroksyestradiol-1(α , β)-N⁷-guanina (4-OHE₂-N⁷-Gua) i 4-hydroksyestradiol-1(α , β)-N³-adenina (4-OHE₂-N³-Ade). Argumentem za kancerogenną aktywnością estrogenów i produktów ich utlenienia są wyniki eksperymentów z wykorzystaniem zwierząt laboratoryjnych. W wyniku wstrzyknięcia E₂-3,4-Q bezpośrednio do gruczołu sutkowego szczura stwierdzano tworzenie adduktów 4-OHE₂-N⁷-Gua i 4-OHE₂-N³-Ade [12,41]. Addukty tego typu wykrywano także w prawidłowej i nowotworowej tkance gruczołu piersiowego u kobiet [25,54]. Metaboliczną aktywację E₂ do catecholi oraz 2-hydroksy i 4-hydroksyestradiolu, a dalej do semichinonów i chinonów katalizuje głównie CYP1B1. 4-hydroksy catechol-estrogeny są także potencjalnymi ligandami receptorów estrogenowych (ER) [50,115]. Mogą więc wpływać zarówno na inicjację jak i promocję nowotworów piersi.

Istnieją jednak doniesienia wskazujące, że niektóre metabolity estrogenów, zwłaszcza 2-metoksyestradiol (2-MeOE₂), mogą działać antykancerogennie. 2-MeOE₂ powstaje dzięki aktywności metylotransferazy catecholowej (COMT) m.in. w tkance piersi i ma zdolność hamowania proliferacji i angiogenezy. W ten sposób, w wyniku metylacji, potencjalnie kancerogenne chinony 4-hydroksyestradiolu mogłyby być eliminowane [57].

BIOSYNTETA ESTROGENÓW W TKANCE GRUCZOŁU PIERSIOWEGO

Źródła estrogenów w tkance gruczołu piersiowego w istotny sposób zależą od wieku kobiety. W okresie od młodości do menopauzy estrogeny są wytwarzane przede wszystkim przez jajniki, a następnie w nieaktywnej formie siarczanów krążą w ustroju skąd są pobierane i wykorzystywane przez tkanki docelowe w tym także nabłonek gruczołu piersiowego. Natomiast profil przemian hormonów estrogenowych u kobiet po menopauzie jest zupełnie odmienny – estrogeny pochodzą z przemian androgenów zachodzących w korze nadnerczy i tkance tłuszczowej, a wytwarzanych przez nadnercza i jajniki. Miller i wsp. [54] i Perel i wsp. [73] wykazali w niezależnych badaniach, że zarówno prawidłowa jak i neoplastyczna ludzka tkanka gruczołu piersiowego jest zdolna do wytwarzania E₂. Następnie Yue i wsp. [121]

udowodnili, że stężenie hormonów w nowotworowej tkance piersi kobiet po menopauzie zależy głównie od syntezy estrogenów *in situ*, a nie od ich podaży z krwiobiegu. Stwierdzono, że lokalny poziom estrogenów w tkance gruczołu piersiowego jest nawet 20 razy większy niż w osoczu, co jest związane ze zdolnością tkanki nowotworowej do wytwarzania czynników stymulujących lokalne wytwarzanie estrogenów z krążących we krwi prekursorów [55,67]. Trzy główne szlaki metaboliczne biorą udział w lokalnej syntezie estrogenów w gruczole piersiowym. Pierwszy to aromatyzacja androstenodionu do estronu lub testosteronu do estradiolu z udziałem aromatazy kodowanej przez CYP19. Za drugi odpowiada sulfataza steroidowa (STS) katalizująca reakcję hydrolizy wolnego estronu z nieaktywnych połączeń siarczanowych krążących we krwi. Trzecim enzymem uczestniczącym w syntezie estrogenów w gruczole piersiowym jest dehydrogenaza 17 β -hydroksysteroidowa typu 1, która redukuje estron do znacznie aktywniejszego estradiolu [72,74,75]. Pozagonadalny poziom estrogenów również w nowotworowo zmienionej tkance gruczołu piersiowego zależy ponadto od działania sulfotransferazy estrogenowej (EST) kodowanej przez gen SULT1E1. Enzym ten wiąże estron w nieaktywną postać siarczanu [2,28]. W prawidłowej tkance piersi EST działa przy fizjologicznych (nanomolowych) stężeniach estradiolu tworząc siarczan estradiolu. Natomiast w tkance nowotworowej gruczołu piersiowego EST nie jest aktywna, w przeciwieństwie do sulfotransferazy fenolowej (PST) kodowanej przez gen SULT1A1, która działa przy większych, mikromolowych stężeniach hormonu. W wyniku aktywności EST proliferacja, której sprzyja estradiol, jest zahamowana w prawidłowych komórkach piersi (estradiol w postaci nieaktywnego siarczanu), zaś w komórkach nowotworowych gruczołu piersiowego proliferacja jest stymulowana przez estradiol niezwiązany w połączenia siarczanowe na skutek braku lub tylko niewielkiej aktywności EST [71]. Równowaga enzymatyczna między STS i EST w miejscu tworzenia w znaczący sposób decyduje o dostępności biologicznie czynnych estrogenów dla danej tkanki [93].

Lokalne podwyższenie poziomu estrogenów w tkance gruczołu piersiowego wydaje się uzależnione przede

wszystkim od aktywności STS ponieważ siarczan estroenu (E_2) jest główną postacią krążących we krwi estrogenów [21,54,59,69,91,114]. Ponadto wykazano, że poziom ekspresji i aktywność STS w ludzkich nowotworach piersi jest wyższa niż aromatazy [26,27,70,88,89]. Stwierdzono także, że poziom mRNA aromatazy nie miał żadnego znaczenia prognostycznego dla chorych na raka piersi po menopauzie [45,82].

Na rycinie 3 przedstawiono schematycznie udział poszczególnych szlaków w przemianach estrogenów wewnątrz tkanki nowotworowej gruczołu piersiowego.

To, że u kobiet po menopauzie to obwodowe tkanki są źródłem aktywnych estrogenów przyczynił się do wprowadzenia nowego pojęcia służącego opisowi mechanizmu działania hormonów – intrakrynologii. Klasyczna koncepcja endokrynologii zakłada, że biologicznie czynne hormony są syntetyzowane w narządach endokrynych, takich jak kora nadnerczy czy przysadka mózgowa. Działanie intrakrynne przypomina działanie endokrynne z tą jednak różnicą, że narząd (np. jajnik) wytwarzający hormon (np. E_2) uwalnia go do krwiobiegu w postaci nieczynnej (np. E_1S), która zostaje uaktywniona dopiero w tkance docelowej przez odpowiednie enzymy (np. STS) [92].

Aromataza

Aromataza (ART) jest kodowana przez gen *CYP19* umiejscowiony na chromosomie 15 w rejonie 21.2 jego długiego ramienia (15p21.2) [16]. Gen składa się z dwóch części: mniejszej – kodującej (eksony II do X) i większej – regulatorowej (ekson I), która zawiera dziesięć swoistych tkankowo promotorów. ART jest umiejscowiona w retikulum endoplazmatycznym komórek wytwarzających estrogeny. Białkowy kompleks aromatazy składa się z dwóch polipeptydów: aromatazy cytochromu P450 kodowanej przez gen *CYP19* i ulegającej ekspresji w komórkach wytwarzających steroidy oraz NADPH zależnej reduktazy cytochromu P450, ulegającej powszechnej ekspresji w wielu komórkach [98]. Ekspresja ART jest zależna od swoistych komórkowo promotorów oraz czynników białkowych i decyduje o obecności lub braku aromatazy, a co za tym idzie – syntezy estrogenów w danej tkance. Ekspresja ART zachodzi zarówno w tkankach prawidłowych (jajniki, adipocyty, łożysko, skóra, kości, mózg), jak i nowotworowych (nowotwór gruczołu piersiowego) [10]. Fizjologiczna aktywność ART poza tkanką gonadalną rośnie wraz ze wzrostem masy ciała (wzrost liczby adipocytów) oraz wiekiem i umożliwia wytwarzanie estrogenów poza jajnikami gwarantując tym samym zachowanie homeostazy hormonalnej w okresie pomenopauzalnym [11, 34]. W zależności od promotora transkrypcję *CYP19* pobudzają m.in.: prostaglandyna E_2 (PGE_2), interleukiny (IL-6, IL-11) w obecności glukokortykosteroidów, czynnik martwicy nowotworu (TNF- α), onkostatyna M i czynnik hamujący białaczkę (LIF) [98,99,120]. Każda tkanka ma swoje regulatory ekspresji. I tak w adipocytach najważniejszymi induktorami ekspresji są: glukokortykosteroidy, interleukiny, onkostatyna M i TNF- α , aktywujące przede wszystkim promotor I.4 [98]. Silniejsze promotory (I.3 i II) są w tych komórkach nieaktywne, dzięki czynnikiowi wyciszającego S1. W jajnikach natomiast, w których poziom ART jest o wiele wyższy niż w tkance tłuszczowej,

dominującą rolę w pobudzaniu ekspresji *CYP19* odgrywa hormon folikulotropowy (FSH). FSH powoduje wzrost poziomu wewnątrzkomórkowego cAMP, który aktywuje silne promotory I.3 i II. W obecności cAMP, wyciszający wpływ S1 jest hamowany.

W zdecydowanej większości zdiagnozowanych przypadków nowotworów piersi (~70%) notuje się porównywalną lub wyższą niż w innych tkankach ekspresję ART [107]. Zwiększony poziom ART obserwuje się zarówno w nabłonkowych komórkach tworzących guz, jak i w adipocytach przylegających do guza, niezależnie od inwazyjności nowotworu [15,121]. W nowotworowo zmienionej tkance gruczołu piersiowego dochodzi do zamiany promotora charakterystycznego dla tkanki tłuszczowej gruczołu piersiowego – I.4, na „silniejszy” promotor gonadalny – II. Ponadto aktywne są promotory I.3 (adipocyty) i I.7 (komórki śród-błonka tkanki piersiowej) [95]. Zmiana promotora wiąże się ze zmianą czynników wpływających na ekspresję genu ART. Zaobserwowano, że pod wpływem wzrostu poziomu cAMP w adipocytach piersi rola promotora I.4 maleje i ekspresja aromatazy zachodzi pod wpływem pobudzenia promotorów I.3 i II. Powoduje to znaczny wzrost wytwarzania ART w komórkach, a zatem wzrost stężenia estrogenów. Prawdopodobnie, każdy czynnik zwiększający poziom cAMP w adipocytach gruczołu piersiowego przyczynia się do rozwoju nowotworu piersi. Do czynników aktywujących cyklazę adenylową, a tym samym poziom cAMP, należy prostaglandyna PGE_2 wytwarzana m.in. przez komórki nowotworowe nabłonka piersi [15]. Można mówić tu o dodatnim sprzężeniu zwrotnym, gdzie PGE_2 , wytwarzana przez komórki nowotworowe, stymuluje ekspresję aromatazy, która z kolei zwiększa poziom estrogenów. Estrogeny zaś stymulują rozwój kolejnych komórek nowotworowych, które proliferując wytwarzają cytokiny, zwiększające ekspresję aromatazy [1,99]. Innym źródłem prostaglandyn są makrofagi, biorące udział w odpowiedzi immunologicznej organizmu na rozwijający się nowotwór [81]. Synteza PGE_2 może być również pobudzana pośrednio przez TNF- α nasilający ekspresję aromatazy oraz cyklooksygenazy (COX-2). Rola prostaglandyn w kancerogenezie może także tłumaczyć hamowanie wzrostu nowotworu przez niesteroidowe leki przeciwzapalne hamujące aktywność cyklooksygenaz [39]. Ponadto w komórkach nowotworowych linii MCF7 zaobserwowano indukcję ekspresji aromatazy przez liczne czynniki wzrostu (np. EGF, TGF, KGF). Sugeruje się, że wzrost ekspresji aromatazy zależy przede wszystkim od parakrynej zależności między komórkami guza wywodzącymi się z komórek nabłonka, a otaczającymi komórkami zrębu (stomal cells) – adipocytami piersi [13,120].

Sulfataza steroidowa

Sulfataza steroidowa to białko transbłonowe związane głównie z szorstkim retikulum endoplazmatycznym większości komórek ludzkiego organizmu [32,106]. STS ma masę 62 kDa, składa się z 587 aminokwasów [106] i jest kodowane przez gen *STS*, umiejscowiony na krótszym ramieniu chromosomu X, w rejonie 22.3 nieulegającym inaktywacji. Gen *STS* składa się z 10 eksonów (146 kpz). STS katalizuje hydrolityczny rozpad wielu siarczanów steroidów, takich jak E_1S , siarczan dehydroepiandrosteronu (DHEA), czy siarczan cholesterolu krążących we krwi [82].



Molekularna regulacja ekspresji STS nie została jeszcze dobrze wyjaśniona. Wiadomo, że czynnik wzrostu fibroblastów oraz insulinowy czynnik wzrostu (IGF-I) zwiększają aktywność STS w komórkach nowotworu piersi linii MCF7 i MDA-MB-231 [77]. Stwierdzono także, że TNF- α i IL-6 podwyższają aktywność STS w komórkach MCF7, prawdopodobnie jednak na zasadzie modyfikacji posttranslacyjnej, ponieważ mRNA STS nie ulegał zmianie [62]. Istnieją także doniesienia o hamowaniu wytwarzania E_2 w wyniku hamowania STS w komórkach MCF7 przez sam E_2 [67]. Nieznany jest jednak dokładny mechanizm tego działania.

STS obecna jest w komórkach większości ludzkich nowotworów piersi, a jej aktywność jest znacząco większa od nowotworowej aktywności ART [26,89]. Ponadto aktywność enzymatyczna STS jest większa w tkance nowotworowej gruczołu piersiowego niż w tkance prawidłowej [85]. Siarczan estronu jest ilościowo najważniejszym estrogenem krążącym we krwi obwodowej [89]. Udowodniono także, że w tkance nowotworowej gruczołu piersiowego stężenie E_2 jest znacząco wyższe niż jego poziom w osoczu [67]. Metodą immunologiczną stwierdzono aktywność STS w cytoplazmie komórek nowotworu piersi, natomiast mRNA dla STS znaleziono jedynie w pobranych komórkach guza, a nie w komórkach zrębu [109]. Istnieje korelacja między poziomem aktywności STS a poziomem mRNA dla STS w ludzkich komórkach nowotworu piersi [68]. Fakty te przemawiają za znaczącym udziałem STS w promocji rozwoju nowotworów piersi przez zwiększanie puli dostępnych wolnych cząsteczek estrogenów działających prokancerogenicznie.

Dehydrogenaza 17 β -hydroksysteroidowa

17 β -HSD jest transbłonowym białkiem katalizującym wzajemne, odwracalne przemiany nieaktywnych postaci 17 β -keto- w aktywne 17 β -hydroksysteroidy zarówno estrogenów jak i androgenów. Jak dotąd zidentyfikowano 14 izoenzymów 17 β -HSD o charakterze 17 β -reduktaz (np. izoformy 1, 7, 12) oraz 17 β -oksydaz (np. izoformy 2, 4, 14) [56]. Poszczególne izoformy różnią się lokalizacją komórkową (cytosol, frakcja mikrosomalna, peroksysony), swoistością tkankową, substratową, wymaganymi kofaktorami oraz mechanizmami regulacji. Najlepiej scharakteryzowano 17 β -HSD typu 1 oraz 17 β -HSD typu 2, enzymy o najwyższej aktywności redoks spośród wszystkich 17 β -HSD [33, 49]. 17 β -HSD typu 1 (17 β -HSD1) kodowana przez gen 17 β -HSD1 umiejscowiony na krótkim ramieniu chromosomu 17 (17q11-21), to białko cytosolowe obecne m.in. w tkance gruczołu piersiowego, w jajniku czy łożysku i odpowiadające przede wszystkim za redukcję estronu do aktywniejszego metabolicznie estradiolu z udziałem NAD(P)H jako kofaktora [48,52]. Natomiast 17 β -HSD typu 2 (17 β -HSD2), to mikrosomalne białko endometrium, łożyska, wątroby, tkanki piersi i prostaty, kodowane przez gen umiejscowiony w chromosomie 16 (16q24), które z udziałem NAD⁺ katalizuje utlenienie zarówno estradiolu do estronu jak i testosteronu do androstendionu znacznie obniżając działanie tych hormonów w tkankach pozagonadalnych [119].

Aktywność utleniająca 17 β -HSD, przede wszystkim 17 β -HSD2, przeważa w komórkach prawidłowych nabłonka

gruczołu piersiowego, natomiast w tkance zmienionej nowotworowo wzrasta aktywność redukcyjna 17 β -HSD1 [53,102]. Stosując modele komórkowe stwierdzono także, że w zależności od statusu receptora estrogenowego przeważa bądź aktywność 17 β -HSD1 (linie komórkowe nowotworu piersi ER(+), jak MCF7, T47D, R27, ZR75-1), bądź aktywność 17 β -HSD2 (linie komórkowe nowotworu piersi ER(-), jak MDA-MB-231, NDA-MB-436, Hs578S) [65]. Stwierdzono ponadto obecność izoform 7, 12 i 14 17 β -HSD w ludzkich nowotworach piersi [36, 101]. Prawdopodobnie równowaga ekspresji poszczególnych izoform 17 β -HSD gwarantuje dostarczenie odpowiedniej ilości estradiolu niezbędnego dla komórek nowotworowych ER(+) [57]. Wśród czynników modulujących ekspresję 17 β -HSD wymienić należy: retinoidy, interleukiny (IL-1, IL-6), cytokiny, IGF-I i IGF-II, TNF- α , oraz progestageny [24,64,76,83,97,100]. Udział wymienionych czynników w regulacji poziomu 17 β -HSD (zwłaszcza 17 β -HSD1) wpływa znacząco na zależną od estrogenów proliferację komórek nowotworu piersi. Stąd też inhibicja 17 β -HSD1 wewnątrz samego guza może się stać w przyszłości celem terapeutycznym dla endokrynoterapii nowej generacji.

AROMATAZA, SULFATAZA STEROIDOWA I DEHYDROGENAZA 17 β -HYDROKSYSTEROIDOWA JAKO CEL ODDZIAŁYWAŃ TERAPEUTYCZNYCH I CHEMIOPREWENCYJNYCH

Terapia

Leczenie nowotworów piersi polega, podobnie jak wielu innych nowotworów, na miejscowym usunięciu guza/guzów, a następnie radioterapii i terapii uzupełniającej w postaci chemioterapii. Ponadto od kilku dekad w przypadkach nowotworu gruczołu piersiowego ER(+) stosuje się hormonoterapię, a zwłaszcza leki z grupy selektywnych modulatorów receptorów estrogenowych (SERM), takich jak np. tamoksyfen. Leki te działają na zasadzie inhibitora kompetycyjnego zajmując miejsce wiążące estrogen w ER [94]. Od kilku lat wykorzystywane są także inhibitory ART. Pierwsze obserwacje na temat możliwości wykorzystania tej strategii do obniżenia syntezy estrogenów pojawiły się już 30 lat temu [37].

Inhibitory aromatazy są obecnie lekami pierwszego rzutu w terapii nowotworów gruczołu piersiowego [120]. Tę grupę leków reprezentuje m.in. aminoglutetimid oraz steroidy: formestan, testolakton i exemestan. Steroidy konkurują z androstendionem o miejsce w centrum aktywnym enzymu i wiążą się z ART nieodwracalnie. Niestety toksyczność i ograniczona selektywność w stosunku do aromatazy ograniczają możliwości ich stosowania. Obecnie stosuje się inhibitory III generacji, o budowie niesteroidowej - głównie anastrozol i letrozol. Leki te są selektywnymi, odwracalnymi inhibitorami kompetycyjnymi, blokującymi ART przez tworzenie wiązania między atomem azotu N-4 w pierścieniu triazolowym leku, a atomem żelaza w hemie cytochromu [18]. Ostatnio prowadzi się intensywne badania nad poszukiwaniem alternatywy dla klasycznych inhibitorów ART w postaci selektywnych inhibitorów dla promotorów aromatazy I.3/II, charakterystycznych dla tkanki nowotworowej piersi. Przedmiotem badań są m.in. troglitazon (agonista receptorów PPAR γ), kwas 9-cis-retinowy (agonista receptorów PPAR γ i RXR), czy maślan sodu [23,85,86]. Uzyskanie bardziej selektywnych inhibitorów

promotorów ART pozwoliłoby na istotne zmniejszenie działań niepożądanych poza nowotworową tkanką piersiową, gdzie ART ulega ekspresji z udziałem innych promotorów.

STS wydaje się znakomitym nowym celem terapeutycznym w przypadku nowotworów ER(+) gruczołu piersiowego, gdy zawiodą konwencjonalne SERM, bądź inhibitory ART [59]. Obydwie grupy inhibitorów nie blokują bowiem w komórkach nowotworu piersi tworzenia estrogenów z osoczowych prekursorów, takich jak E₁S, czy siarczanu DHEA. Inhibitory STS okazały się skuteczne m.in. w hamowaniu proliferacji komórek nowotworu piersi linii ER(+) MCF7, w przypadku, gdy źródłem estrogenów był siarczan estradiolu [96]. Istnieją inhibitory STS o budowie zarówno steroidowej jak i niesteroidowej o nieodwracalnym typie inhibicji, a grupą czynną jest sulfamoilan fenylu [82]. Aktywne są także pochodne estradiolu i estronu podstawione w pozycji 2 oraz ich 3-O-sulfonowe pochodne [40]. Zaproponowano również steroidowy związek SR16157 o dwukierunkowym działaniu – antyestrogenowym oraz hamującym STS [80]. Obecnie prowadzone są badania SR16157 z zastosowaniem zwierząt eksperymentalnych, a także badania kliniczne I fazy z udziałem kobiet po menopauzie chorujących na nowotwory piersi. Jak dotąd nie stwierdzono znacznych działań niepożądanych. Co ciekawe, część badanych związków może hamować aktywność zarówno STS jak i ART [62,79,87,104].

Od chwili, gdy udowodniono udział 17 β -HSD1 w wytwarzaniu estrogenów wewnątrz komórek nowotworu piersi, poszukuje się inhibitorów tego enzymu. Mimo licznych badań jak dotąd nie udało się zaprojektować/zsyntetyzować, związku o takim charakterze, który nie miałby aktywności estrogenowej a jednocześnie wykazywał minimalne działania niepożądane [51,78,88,113]. Pewne nadzieje wiąże się z pochodnymi steroidowymi o zmodyfikowanym pierścieniu E [29]. Ze względu na odmienną i niezależną od siebie kontrolę ekspresji aromatazy i 17 β -HSD1 w komórkach guza piersi, inhibitory 17 β -HSD1 wydają się interesującą alternatywą dla klasycznej terapii. Nadekspresja 17 β -HSD1 jest obserwowana u niektórych pacjentek przy jednoczesnej praktycznie nieoznaczalnej ekspresji aromatazy, co może być powodem nieskuteczności leczenia tych pacjentek inhibitorami aromatazy [108]. Sugeruje się ponadto możliwe zastosowanie inhibitorów 17 β -HSD1 u chorych z nadekspresją 17 β -HSD1 w kolejnych etapach terapii, kiedy komórki nowotworowe stają się odporne zarówno na SERM jak i inhibitory aromatazy.

Chemioprewencja

Konwencjonalne leczenie nowotworów gruczołu piersiowego jest kosztowne i obarczone znacznymi działaniami niepożądanymi, a w przypadkach nowotworów ER(-) czy w zaawansowanym stadium choroby – ostatecznie nieskuteczne. Interesującą alternatywą dla klasycznej farmakoterapii może okazać się koncepcja wczesnej interwencji. Powszechnie wiadomo, że podstawą kancerogenezy są mutacje. Proces kancerogenezy jest jednak wieloetapowy i wiąże się z licznymi zmianami dotyczącymi zarówno ekspresji genów regulujących komórkową homeostazę, jak i ze zmianami epigenetycznymi molekuł regulujących procesy różnicowania i proliferacji komórkowej. To determinuje wieloletni okres utajenia nowotworu. Chemioprewencja

to profilaktyka onkologiczna służąca modulacji procesu kancerogenezy na wczesnych etapach rozwoju nowotworu za pomocą środków farmakologicznych lub nieodżywczych składników żywności [5]. Wyniki badań klinicznych i epidemiologicznych oceniających możliwość zmniejszenia ryzyka rozwoju nowotworu piersi za pomocą SERM są najlepszym dowodem na słuszność koncepcji chemioprewencyjnego działania w kontekście nowotworów gruczołu piersiowego. Udowodniono, że chemioprewencja środkami farmakologicznymi (tamoksyfen, raloksyfen) jest skuteczna w przypadkach nowotworów ER(+) i mniejsza ryzyko zachorowania nawet o 55–69% [6,17,94,103,105,110]. Podstawą wprowadzenia SERM jako leków chemioprewencyjnych w nowotworze gruczołu piersiowego były badania Cuzicka i wsp. [19,20] przeprowadzane z udziałem kobiet w wieku 35–70 lat, u których występowały istotne czynniki ryzyka (pozytywny wywiad rodzinny, późna pierwsza ciąża, stosowanie hormonalnej terapii zastępczej, otyłość). Badania te wykazały, że tamoksyfen zmniejsza o 26–38% zapadalność na nowotwory piersi ER(+). Niestety jednocześnie obserwowano niebezpieczne działania niepożądane tamoksyfenu, takie jak osteoporoza, zakrzepy i zatory, w tym zatory płucne, zwiększone ryzyko raka endometrium macicy oraz wątroby [19,110]. Podobną skuteczność w zapobieganiu rozwojowi nowotworu piersi wykazał raloksyfen, powodując jednak mniej działań niepożądanych m.in. w mniejszym stopniu niż tamoksyfen oddziaływał na metabolizm kostny, stąd jest wskazany u kobiet po menopauzie z wyższym ryzykiem osteoporozy [6,110]. Podstawowym ograniczeniem chemioprewencyjnego stosowania SERM jest ich całkowita nieskuteczność w zapobieganiu przypadkom nowotworu piersi ER(-) [18,110]. Jako alternatywę rozważa się inhibitory aromatazy, anastrozol i letrozol [8,15,18]. Związki te w badaniach klinicznych wykazały większą skuteczność od tamoksyfenu i raloksyfenu, ale również tylko w stosunku do nowotworów ER(+) [7,17,18]. Przypuszcza się, że zmniejszenie ryzyka zachorowalności na nowotwory piersi ER(+) przez anastrozol może wynosić nawet 80%. Niestety podobnie jak w przypadku SERM stosowanie inhibitorów aromatazy obarczone jest istotnymi działaniami niepożądanymi (np. odwapnienie kości) [18]. Z tego powodu prowadzi się szeroko zakrojone badania nad poszukiwaniem nowych środków chemioprewencyjnych skutecznych przede wszystkim w zapobieganiu nowotworom piersi ER(-). Jak dotąd brak jest doniesień wskazujących jako punkty uchwytu STS, bądź 17 β -HSD1.

Jednym ze źródeł nowych, skuteczniejszych i bezpieczniejszych związków o potencjalnym działaniu chemioprewencyjnym mogą być składniki diety człowieka. Od czasu opublikowania dwóch pierwszych doniesień na początku lat osiemdziesiątych ubiegłego wieku, prowadzono intensywne badania nad rolą diety w etiologii i prewencji nowotworów. W roku 2005 zakończono pierwsze badania kliniczne III fazy dotyczące interwencji żywieniowej w profilaktyce nowotworów. Badania te, choć nie dostarczyły jednoznacznych wyników w odniesieniu do wszystkich badanych związków (β -karoten, α -tokoferol, selen i retinol), wyraźnie potwierdziły istotną rolę diety w procesie kancerogenezy oraz to, że interwencja żywieniowa może zdecydowanie zmniejszyć zapadalność na nowotwory [111]. Może ona być szczególnie skuteczna jako postać profilaktyki stosowanej powszechnie. W chemioprewencji



nowotworów piersi największe perspektywy wiąże się z substancjami wpływającymi na poziom estrogenów we krwi i w tkance gruczołu piersiowego. W związku z tym poszukuje się czynników modulujących aktywność enzymów, takich jak STS, SULT1E1, 17 β HSD oraz enzymów z superrodziny cytochromu P450, szczególnie tych, które mają wpływ na syntezę i metabolizm estrogenów (*CYP19*, *CYP1B1*, *CYP1A1*, *CYP1A2*, *CYP3A4*, *CYP3A5*). Jednym ze źródeł takich substancji są rośliny z rodziny kapustowatych (*Brassicaceae*), takie jak kapusta, kalafior, brokuł, jarmuż czy rzeżucha. Wpływ diety bogatej w rośliny kapustowate na zmniejszenie zachorowalności na nowotwory, w tym nowotwór piersi, został potwierdzony w wielu badaniach obejmujących także populacje migrantów [3,30,38,60,112]. Badania przeprowadzone w populacji kobiet polskiego pochodzenia w rejonie Chicago i Detroit wykazały, że w ciągu jednego pokolenia zapadalność na nowotwór piersi w tej grupie zwiększyła się trzykrotnie osiągając poziom obserwowany u kobiet urodzonych w USA. Badania porównawcze kobiet zdrowych i ze zdiagnozowanym nowotworem piersi wykazały wyraźnie, że spożywanie kapusty poddanej krótkiej obróbce termicznej lub kiszzonej (3 razy w tygodniu), szczególnie w okresie dojrzewania, zmniejsza ryzyko nowotworu piersi o 72% [60]. Mimo braku konkretnych i jednoznacznych dowodów na temat leczniczego działania kapusty, kobietom po mastektomii onkolodzy powszechnie zalecają picie soku z kiszzonej kapusty. Przejawem korzystnego działania roślin kapustowatych w chorobach nowotworowych jest także zdolność do ingerencji w poziom estrogenów [9]. Wykazano, że dieta uwzględniająca warzywa kapustowate zwiększa aktywność m.in. *CYP1A2*, odpowiedzialnego za hydroksylację estradiolu [116]. Doświadczenia z wykorzystaniem komórek nowotworu piersi MCF7 wykazały również, że liofilizowany ekstrakt z surowej i kiszzonej kapusty hamuje stymulowaną estradiolem proliferację tych komórek, poprzez mechanizm hormonozależny [38]. W badaniach klinicznych wpływ na metabolizm estrogenów badano analizując mocz kobiet w okresie pomonopauzalnym, po wzbogaceniu ich diety w rośliny kapustowate. Dowiedziano, że regularne spożywanie brokułów zmienia model metabolizmu estrogenów, zwiększając zawartość niegroźnego 2-hydroksyestronu w stosunku do kancerogennego 16 α -hydroksyestronu [31]. Nie udowodniono jednak dotychczas, które z zawartych w roślinach składników są odpowiedzialne za obserwowane działanie. Tym niemniej, aktywność chemioprewencyjną roślin kapustowatych przypisuje się przede wszystkim glikozyzolanom, z których w wyniku hydrolitycznej degradacji tworzą się indole (np. indolo-3-karbinol (I3C) i 3,3'-diindolometan (DIM) – produkt dimeryzacji I3C w środowisku kwaśnym, tworzący się m.in. w żołądku) i izotiocyaniany (ITC) np. sulforafan (SUL). Indole i ITC modulują przede wszystkim aktywność enzymów I i II fazy metabolizmu ksenobiotyków, ale ich działanie jest szerokie i nie zawsze jednoznacznie korzystne. I tak np. I3C oprócz działania hamującego inicjację nowotworów może też promować ich rozwój [22]. Udowodniono jednak na modelach zwierzęcych i liniach komórkowych, że I3C hamuje rozwój komórek nowotworu piersi [4]. Indole i ITC wpływają na komórki rakowe modyfikując aktywność i metabolizm estrogenów oraz zmniejszając wytwarzanie ER. Modulacja metabolizmu estrogenów przez indole polega na indukcji m.in. *CYP1B1*, *CYP1A1*, odpowiedzialnych za

hydroksylację estradiolu [14,116]. Działanie antyestrogenne I3C i DIM tłumaczy się również ich wiązaniem z receptorem wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (AhR). W innych badaniach wykazano, że DIM w bardzo niskich stężeniach wywołuje oporność komórek MCF7 na stymulację estrogenami. Efekt ten jest tłumaczony wiązaniem się DIM z AhR, obniżaniem wrażliwości komórek na estrogeny i hamowaniem proliferacji ER(+) komórek MCF7 [14]. Kompleksy I3C-AhR i DIM-AhR działają antyestrogennie także przez hamowanie ekspresji genu receptora estrogenowego [117]. Wstępne badania przeprowadzone przez autorów tego artykułu wykazały, że zarówno soki z kapusty (świeżej i kiszzonej), jak i ich potencjalnie czynne składniki – I3C, DIM i SUL, zwiększają ekspresję *CYP1A1*, *1A2* i *1B1* w komórkach nowotworowych MCF7, ale także immortalizowanych komórkach nabłonka gruczołu piersiowego MCF10A. Co więcej, mają także zdolność obniżenia ekspresji *CYP19*, co wskazuje, że kapusta i jej czynne składniki mogą zmniejszać aktywność aromatazy [42,44]. W innej serii doświadczeń w tym samym układzie eksperymentalnym wykazano także, że sok z kapusty świeżej i kiszzonej oraz I3C, DIM i SUL zmieniają ekspresję *STS* [43].

Powyższe dane sugerują, że wielokierunkowe działanie preparatów o składnikach czynnych *Brassicaceae* może wiązać się z modulacją ekspresji i aktywności głównych enzymów biosyntezy estrogenów. Dotychczas takie badania nie były podejmowane. Przedstawione wyżej wyniki sugerują, że chemioprewencyjne działanie kapustowatych wobec nowotworów piersi może wynikać z obniżonego wytwarzania *in situ* estrogenów.

PODSUMOWANIE

Biologiczne znaczenie syntezy estrogenów *in situ* w tkance gruczołu piersiowego nadal jest szeroko dyskutowane. Niemniej coraz więcej badań wskazuje, że u pacjentek z nowotworem piersi ER(+), zwłaszcza po menopauzie, estrogeny wytwarzane wewnątrz samego guza w wyniku aromatyzacji mogą funkcjonować jako autokrynne czynniki wzrostu stymulujące rozwój nowotworu, niezależnie od poziomu hormonów w osoczu. O ile inhibitory aromatazy są wykorzystywane od dawna w terapii nowotworów piersi, sulfataza i dehydrogenaza 17 β -hydroksysteroidowa, to nowe i jak się wydaje atrakcyjne cele strategii terapeutycznych i/lub chemioprewencyjnych.

Skuteczność farmakologicznej chemioprewencji nowotworów gruczołu piersiowego nie podlega dyskusji. Stosowanie tamoksyfenu, czy anastrozolu uratowało lub znacząco przedłużyło życie milionom kobiet. Niestety ponad 50% przypadków pierwotnie odpowiadających na tamoksyfen, staje się odporne na leczenie. Fakt ten, a także dość poważne działania niepożądane SERM, skłaniają do poszukiwania nowych, bezpieczniejszych, tańszych, acz równie skutecznych alternatyw. W świetle dzisiejszej wiedzy naukowej wydaje się, że m.in. składniki pożywienia, w tym warzywa kapustowate mogą spełnić wszystkie te kryteria. Wymaga to jednak potwierdzenia przez wyniki wiarygodnych badań klinicznych. Ich stosowanie zapewne będzie najbardziej skuteczne, jeśli wzbogacona w składniki czynne dieta będzie przestrzegana na długo przed pojawieniem się pierwszych symptomów choroby.

PIŚMIENICTWO

- [1] Agarwal V.R., Bulun S.E., Leitch M., Rohrich R., Simpson E.R.: Use of alternative promoters to express the aromatase cytochrome P450 (CYP19) gene in breast adipose tissues of cancer-free and breast cancer patients. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1996; 81: 3843–3849
- [2] Aksoy I.A., Wood T.C., Weinshilboum R.: Human liver estrogen sulfotransferase: identification by cDNA cloning and expression. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1994; 200: 1621–1629
- [3] Ambrosone C.B., McCann S.E., Freudenheim J.L., Marshall J.R., Zhang Y., Shields P.G.: Breast cancer risk in premenopausal women is inversely associated with consumption of broccoli, a source of isothiocyanates, but is not modified by GST genotype. *J. Nutr.*, 2004; 134: 1134–1138
- [4] Auburn K.J., Fan S., Rosen E.M., Goodwin L., Chandraskaren A., Williams D.E., Chen D., Carter T.H.: Indole-3-carbinol is a negative regulator of estrogen. *J. Nutr.*, 2003; 133 (Suppl. 7): 2470S–2475S
- [5] Baer-Dubowska W., Ignatowicz E.: Chemoprevention of cancer: Basic mechanisms and molecular targets. W: *Carcinogenic and anticarcinogenic food components*, red.: W. Baer-Dubowska, A. Bartoszek, D. Malejka-Giganti. CRC Taylor&Francis Group Boca Raton FL USA, London UK, 2006; 177–196
- [6] Barrett-Connor E.: Raloxifene: risks and benefits. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 2001; 949: 295–303
- [7] Baum M., Buzdar A., Cuzick J., Forbes J., Houghton J., Howell A., Sahmoud T.: Anastrozole alone or in combination with tamoxifen versus tamoxifen alone for adjuvant treatment of postmenopausal women with early-stage breast cancer: results of the ATAC (Arimidex, Tamoxifen Alone or in Combination) trial efficacy and safety update analyses. *Cancer*, 2003; 98: 1802–1810
- [8] Belous A.R., Hachey D.L., Dawling S., Roodi N., Parl F.F.: Cytochrome P450 1B1-mediated estrogen metabolism results in estrogen-deoxyribonucleoside adduct formation. *Cancer Res.*, 2007; 67: 812–817
- [9] Brandi G., Schiavano G.F., Zaffaroni N., De Marco C., Paiardini M., Cervasi B., Magnani M.: Mechanisms of action and antiproliferative properties of Brassica oleracea juice in human breast cancer cell lines. *J. Nutr.*, 2005; 135: 1503–1509
- [10] Bulun S.E., Lin Z., Imir G., Amin S., Demura M., Yilmaz B., Martin R., Utsunomiya H., Thung S., Gurates B., Tamura M., Langoi D., Deb S.: Regulation of aromatase expression in estrogen-responsive breast and uterine disease: from bench to treatment. *Pharmacol. Rev.*, 2005; 57: 359–383
- [11] Bulun S.E., Simpson E.R.: Competitive reverse transcription-polymerase chain reaction analysis indicates that levels of aromatase cytochrome P450 transcripts in adipose tissue of buttocks, thighs, and abdomen of women increase with advancing age. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1994; 78: 428–432
- [12] Cavalieri E.L., Stack D.E., Devanesan P.D., Todorovic R., Dwivedy I., Higginbotham S., Johansson S.L., Patil K.D., Gross M.L., Gooden J.K., Ramanathan R., Cerny R.L., Rogan E.G.: Molecular origin of cancer: catechol estrogen-3,4-quinones as endogenous tumor initiators. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1997; 94: 10937–10942
- [13] Chen D., Reierstaad S., Lu M., Lin Z., Ishikawa H., Bulun S.E.: Regulation of breast cancer-associated aromatase promoters. *Cancer Lett.*, 2009; 273: 15–27
- [14] Chen I., McDougal A., Wang F., Safe S.: Aryl hydrocarbon receptor-mediated antiestrogenic and antitumorigenic activity of diindolylmethane. *Carcinogenesis*, 1998; 19: 1631–1639
- [15] Chen S.: Aromatase and breast cancer. *Front. Biosci.*, 1998; 3: d922–d933
- [16] Chen S.A., Besman M.J., Sparkes R.S., Zollman S., Klisak I., Mohandas T., Hall P.F., Shively J.E.: Human aromatase: cDNA cloning, Southern blot analysis, and assignment of the gene to chromosome 15. *DNA*, 1988; 7: 27–38
- [17] Coombes R.C., Hall E., Gibson L.J., Paridaens R., Jasse J., Delozier T., Jones S.E., Alvarez I., Bertelli G., Ortmann O., Coates A.S., Bajetta E., Dodwell D., Coleman R.E., Fallowfield L.J., Mickiewicz E., Andersen J., Lønning P.E., Cocconi G., Stewart A., Stuart N., Snowdon C.F., Carpentieri M., Massimini G., Bliss J.M., van de Velde C.: A randomized trial of exemestane after two to three years of tamoxifen therapy in postmenopausal women with primary breast cancer. *N. Engl. J. Med.*, 2004; 350: 1081–1092
- [18] Cuzick J.: Aromatase inhibitors for breast cancer prevention. *J. Clin. Oncol.*, 2005; 23: 1636–1643
- [19] Cuzick J., Forbes J.F., Sestak I., Cawthorn S., Hamed H., Holli K., Howell A.: Long-term results of tamoxifen prophylaxis for breast cancer – 96-month follow-up of the randomized IBIS-I trial. *J. Natl. Cancer Inst.*, 2007; 99: 272–282
- [20] Cuzick J., Powles T., Veronesi U., Forbes J., Edwards R., Ashley S., Boyle P.: Overview of the main outcomes in breast-cancer prevention trials. *Lancet*, 2003; 361: 296–300
- [21] Dao T.L., Hayes C., Libby P.R.: Steroid sulfatase activities in human breast tumors. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1974; 146: 381–384
- [22] Dashwood R.H., Fong A.T., Williams D.E., Hendricks J.D., Bailey G.S.: Promotion of aflatoxin B1 carcinogenesis by the natural tumor modulator indole-3-carbinol: influence of dose, duration, and intermittent exposure on indole-3-carbinol promotional activity. *Cancer Res.*, 1991; 51: 2362–2365
- [23] Deb S., Zhou J., Amin S.A., Imir A.G., Yilmaz M.B., Lin Z., Bulun S.E.: A novel role of sodium butyrate in the regulation of cancer-associated aromatase promoters I.3 and II by disrupting a transcriptional complex in breast adipose fibroblasts. *J. Biol. Chem.*, 2006; 281: 2585–2597
- [24] Duncan L.J., Coldham N.G., Reed M.J.: The interaction of cytokines in regulating oestradiol 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase activity in MCF-7 cells. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 1994; 49: 63–68
- [25] Embrechts J., Lemiere F., Van Dongen W., Esmans E.L., Buytaert P., Van Marck E., Kockx M., Makar A.: Detection of estrogen DNA-adducts in human breast tumor tissue and healthy tissue by combined nano LC-nano ES tandem mass spectrometry. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, 2003; 14: 482–491
- [26] Evans T.R., Rowlands M.G., Law M., Coombes R.C.: Intratumoral oestrone sulphatase activity as a prognostic marker in human breast carcinoma. *Br. J. Cancer*, 1994; 69: 555–561
- [27] Evans T.R., Rowlands M.G., Luqmani Y.A., Chander S.K., Coombes R.C.: Detection of breast cancer-associated estrone sulfatase in breast cancer biopsies and cell lines using polymerase chain reaction. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 1993; 46: 195–201
- [28] Falany C.N., Krasnykh V., Falany J.L.: Bacterial expression and characterization of a cDNA for human liver estrogen sulfotransferase. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 1995; 52: 529–539
- [29] Fischer D.S., Allan G.M., Bubert C., Vicker N., Smith A., Tutill H.J., Purohit A., Wood L., Packham G., Mahon M.F., Reed M.J., Potter B.V.: E-ring modified steroids as novel potent inhibitors of 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1. *J. Med. Chem.*, 2005; 48: 5749–5770
- [30] Fowke J.H., Chung F.L., Jin F., Qi D., Cai Q., Conaway C., Cheng J.R., Shu X.O., Gao Y.T., Zheng W.: Urinary isothiocyanate levels, *brassica*, and human breast cancer. *Cancer Res.*, 2003; 63: 3980–3986
- [31] Fowke J.H., Longcope C., Hebert J.R.: Brassica vegetable consumption shifts estrogen metabolism in healthy postmenopausal women. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 2000; 9: 773–779
- [32] Fu J., Weise A.M., Falany J.L., Falany C.N., Thibodeau B.J., Miller F.R., Kocarek T., Runge-Morris M.: Expression of estrogenicity genes in a lineage cell culture model of human breast cancer progression. *Breast Cancer Res. Treat.*, 2010; 120: 35–45
- [33] Gangloff A., Garneau A., Huang Y.W., Yang F., Lin S.X.: Human oestrogenic 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase specificity: enzyme regulation through an NADPH-dependent substrate inhibition towards the highly specific oestrone reduction. *Biochem. J.*, 2001; 356: 269–276
- [34] Grodin J.M., Siiteri P.K., MacDonald P.C.: Source of estrogen production in postmenopausal women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1973; 36: 207–214
- [35] International Agency for Research on Cancer, Monographs on the Evolution of Carcinogenic Risks to Humans: Hormonal Contraception and Postmenopausal Hormone Therapy. IARC 1999, Lyon, France, vol. 72
- [36] Jansson A.K., Gunnarsson C., Cohen M., Sivik T., Stål O.: 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase 14 affects estradiol levels in breast cancer cells and is a prognostic marker in estrogen receptor-positive breast cancer. *Cancer Res.*, 2006; 66: 11471–11477
- [37] Jordan V.C.: A century of deciphering the control mechanisms of sex steroid action in breast and prostate cancer: the origins of targeted therapy and chemoprevention. *Cancer Res.*, 2009; 69: 1243–1254
- [38] Ju Y.H., Carlson K.E., Sun J., Pathak D., Katzenellenbogen B.S., Katzenellenbogen J.A., Helferich W.G.: Estrogenic effects of extracts from cabbage, fermented cabbage, and acidified Brussels sprouts on growth and gene expression of estrogen-dependent human breast cancer (MCF-7) cells. *J. Agric. Food Chem.*, 2000; 48: 4628–4634



- [39] Karuppu D., Kalus A., Simpson E.R., Clyne C.: Aromatase and prostaglandin inter-relationships in breast adipose tissue: significance for breast cancer development. *Breast Cancer Res. Treat.*, 2002; 76: 103–109
- [40] Leese M.P., Hejaz H.A., Mahon M.F., Newman S.P., Purohit A., Reed M.J., Potter B.V.: A-ring-substituted estrogen-3-O-sulfamates: potent multitargeted anticancer agents. *J. Med. Chem.*, 2005; 48: 5243–5256
- [41] Li K.M., Todorovic R., Devanesan P., Higginbotham S., Köfeler H., Ramanathan R., Gross M.L., Rogan E.G., Cavaliere E.L.: Metabolism and DNA binding studies of 4-hydroxyestradiol and estradiol-3,4-quinone *in vitro* and in female ACL rat mammary gland *in vivo*. *Carcinogenesis*, 2004; 25: 289–297
- [42] Licznarska B.E., Baer-Dubowska W.: CYP1A1, 1A2, and 1B1 expression in breast cancer MCF7 cells treated with active components of cabbage juices. *FEBS J.*, 2009; 276(Suppl.1): 323–324
- [43] Licznarska B.E., Bartoszek A., Baer-Dubowska W.: Modułacja ekspresji sulfatazy (STS) przez aktywne składniki soków z kapusty w komórkach nabłonka gruczołu piersiowego MCF7 i MCF10A, V Zjazd PTFKiT, 19.11.2009, Abstrakt nr DU8
- [44] Licznarska B.E., Matuszak I., Baer-Dubowska W.: Expression profile of CYP19 in human breast cancer cell lines treated with indolo-3-carbinol, 3,3'-diindolylmethane, and sulforafane. *Cancer Res.*, 2009; 69(Suppl.): 138s
- [45] Licznarska B.E., Wegman P.P., Nordenskjöld B., Wingren S.: *In situ* levels of oestrogen producing enzymes and its prognostic significance in postmenopausal breast cancer patient. *Breast Cancer Res. Treat.*, 2008; 112: 15–23
- [46] Liehr J.G., Avitts T.A., Randerath E., Randerath K.: Estrogen-induced endogenous DNA adduction: possible mechanism of hormonal cancer. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1986; 83: 5301–5305
- [47] Lu M.L., Huang Y.W., Lin S.X.: Purification, reconstitution, and steady-state kinetics of the transmembrane 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase 2. *J. Biol. Chem.*, 2002; 277: 22123–22130
- [48] Luu The V., Labrie C., Zhao H.F., Couët J., Lachance Y., Simard J., Leblanc G., Coté J., Bérubé D., Gagné R., Labrie F.: Characterization of cDNAs for human estradiol 17 β -dehydrogenase and assignment of the gene to chromosome 17: evidence of two mRNA species with distinct 5'-termini in human placenta. *Mol. Endocrinol.*, 1989; 3: 1301–1309
- [49] Markushin Y., Zhong W., Cavaliere E.L., Rogan E.G., Small G.J., Yeung E.S., Jankowiak R.: Spectral characterization of catechol estrogen quinone (CEQ)-derived DNA adducts and their identification in human breast tissue extract. *Chem. Res. Toxicol.*, 2003; 16: 1107–1117
- [50] Martucci C., Fishman J.: Uterine estrogen receptor binding of catechol estrogens and of estetrol (1,3,5(10)-estratriene-3,15 α ,16 α ,17 β -tetrol). *Steroids*, 1976; 27: 325–333
- [51] Messinger J., Hirvelä L., Husen B., Kangas L., Koskimies P., Pentikäinen O., Saarenketo P., Thole H.: New inhibitors of 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 2006; 248: 192–198
- [52] Miettinen M.M., Mustonen M.V., Poutanen M.H., Isomaa V.V., Vihko R.K.: Human 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 and type 2 isoenzymes have opposite activities in cultured cells and characteristic cell- and tissue-specific expression. *Biochem. J.*, 1996; 314: 839–845
- [53] Miettinen M.M., Mustonen M.V., Poutanen M.H., Isomaa V.V., Wickman M., Soderqvist G., Vihko R.K., Vihko P.: 17 β -hydroxysteroid dehydrogenases in normal human mammary epithelial cells and breast tissue. *Breast Cancer Res. Treat.*, 1999; 57: 175–182
- [54] Miller W.R., Hawkins R.A., Forrest A.P.: Significance of aromatase activity in human breast cancer. *Cancer Res.*, 1982; 42(Suppl.8): 3365s–3368s
- [55] Miller W.R., Mullen P., Sourdain P., Watson C., Dixon J.M., Telford J.: Regulation of aromatase activity within the breast. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 1997; 61: 193–202
- [56] Mindnich R., Möller G., Adamski J.: The role of 17 β -hydroxysteroid dehydrogenases. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 2004; 218: 7–20
- [57] Mueck A.O., Seeger H.: Breast cancer: are oestrogen metabolites carcinogenic? *Maturitas*, 2007; 57: 42–46
- [58] Nagasaki S., Miki Y., Akahira J., Suzuki T., Sasano H.: 17 β -hydroxysteroid dehydrogenases in human breast cancer. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 2009; 1155: 25–32
- [59] Nakata T., Takashima S., Shiotsu Y., Murakata C., Ishida H., Akinaga S., Li P.K., Sasano H., Suzuki T., Saeki T.: Role of steroid sulfatase in local formation of estrogen in post-menopausal breast cancer patients. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 2003; 86: 455–460
- [60] Nelson N.J.: Migrant studies aid the search for factors linked to breast cancer risk. *J. Natl. Cancer Inst.*, 2006; 98: 436–438
- [61] Newman S.P., Purohit A., Ghilchik M.W., Potter B.V., Reed M.J.: Regulation of steroid sulphatase expression and activity in breast cancer. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 2000; 75: 259–264
- [62] Nussbaumer P., Billich A.: Steroid sulfatase inhibitors: their potential in the therapy of breast cancer. *Curr. Med. Chem. Anticancer Agents*, 2005; 5: 507–528
- [63] Nutter L.M., Ngo E.O., Abul-Hajj Y.J.: Characterization of DNA damage induced by 3,4-estrone-o-quinone in human cells. *J. Biol. Chem.*, 1991; 226: 16380–16386
- [64] Pasqualini J.R.: Differential effects of progestins on breast tissue enzymes. *Maturitas*, 2003; 46(Suppl.1): S45–S54
- [65] Pasqualini J.R.: The selective estrogen enzyme modulators in breast cancer: a review. *Biochim. Biophys. Acta*, 2004; 1654: 123–143
- [66] Pasqualini J.R.: Estrogen sulfotransferases in breast and endometrial cancers. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 2009; 1155: 88–98
- [67] Pasqualini J.R., Chetrite G., Blacker C., Feinstein M.C., Delalonde L., Talbi M., Maloche C.: Concentrations of estrone, estradiol, and estrone sulfate and evaluation of sulfatase and aromatase activities in pre- and postmenopausal breast cancer patients. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1996; 81: 1460–1464
- [68] Pasqualini J.R., Chetrite G.S.: Recent insight on the control of enzymes involved in estrogen formation and transformation in human breast cancer. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 2005; 93: 221–236
- [69] Pasqualini J.R., Gelly C., Lecerf F.: Estrogen sulfates: biological and ultrastructural responses and metabolism in MCF-7 human breast cancer cells. *Breast Cancer Res. Treat.*, 1986; 8: 233–240
- [70] Pasqualini J.R., Maloche C., Maroni M., Chetrite G.: Effect of the progestagen Promegestone (R-5020) on mRNA of the estrone sulphatase in the MCF-7 human mammary cancer cells. *Anticancer Res.*, 1994; 14: 1589–1593
- [71] Peltoketo H., Isomaa V., Mäentausta O., Vihko R.: Complete amino acid sequence of human placental 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase deduced from cDNA. *FEBS Lett.*, 1988; 239: 73–77
- [72] Perel E., Wilkins D., Killinger D.W.: The conversion of androstenedione to estrone, estradiol, and testosterone in breast tissue. *J. Steroid Biochem.*, 1980; 13: 89–94
- [73] Petrelli N.J., Winer E.P., Brahm J., Dube S., Smith S., Thomas C., Vahdat L.T., Obel J., Vogelzang N., Markman M., Sweetenham J.W., Pfister D., Kris M.G., Schuchter L.M., Sawaya R., Raghavan D., Ganz P.A., Kramer B.: *Clinical Cancer Advances 2009: major research advances in cancer treatment, prevention, and screening – a report from the American Society of Clinical Oncology*. *J. Clin. Oncol.*, 2009; 27: 6052–6069
- [74] Poutanen M., Isomaa V., Lehto V.P., Vihko R.: Immunological analysis of 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase in benign and malignant human breast tissue. *Int. J. Cancer*, 1992; 50: 386–390
- [75] Poutanen M., Isomaa V., Peltoketo H., Vihko R.: Role of 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 in endocrine and intracrine estradiol biosynthesis. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 1995; 55: 525–532
- [76] Purohit A., Newman S.P., Reed M.J.: The role of cytokines in regulating estrogen synthesis: implications for the etiology of breast cancer. *Breast Cancer Res.*, 2002; 4: 65–69
- [77] Purohit A., Reed M.J.: Oestrogen sulphatase activity in hormone-dependent and hormone-independent breast-cancer cells: modulation by steroidal and nonsteroidal therapeutic agents. *Int. J. Cancer*, 1992; 50: 901–905
- [78] Purohit A., Tutill H.J., Day J.M., Chander S.K., Lawrence H.R., Allan G.M., Fischer D.S., Vicker N., Newman S.P., Potter B.V., Reed M.J.: The regulation and inhibition of 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase in breast cancer. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 2006; 248: 199–203
- [79] Raobaikady B., Day J.M., Purohit A., Potter B.V., Reed M.J.: The nature of inhibition of steroid sulphatase activity by tibolone and its metabolites. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 2005; 94: 229–237
- [80] Rasmussen L.M., Zaveri N.T., Stenvang J., Peters R.H., Lykkesfeldt A.E.: A novel dual-target steroid sulfatase inhibitor and antiestrogen: SR 16157, a promising agent for the therapy of breast cancer. *Breast Cancer Res. Treat.*, 2007; 106: 191–203
- [81] Reed M.J., Purohit A.: Aromatase regulation and breast cancer. *Clin. Endocrinol.*, 2001; 54: 563–571
- [82] Reed M.J., Purohit A., Woo L.W., Newman S.P., Potter B.V.: Steroid sulfatase: molecular biology, regulation, and inhibition. *Endocr. Rev.*, 2005; 26: 171–292
- [83] Reed M.J., Rea D., Duncan L.J., Parker M.G.: Regulation of estradiol 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase expression and activity by retinoic acid in T47D breast cancer cells. *Endocrinology*, 1994; 135: 4–9

- [84] Rubin G.L., Duong J.H., Clyne C.D., Speed C.J., Murata Y., Gong C., Simpson E.R.: Ligands for the peroxisomal proliferators-activated receptor γ and the retinoid X receptor inhibit aromatase cytochrome P450 (CYP19) expression mediated by promoter II in human breast adipose. *Endocrinology*, 2002; 143: 2863–2871
- [85] Saeki T., Takashima S., Sasaki H., Hanai N., Salomon D.S.: Localization of estrone sulfatase in human breast carcinoma. *Breast Cancer*, 1999; 6: 331–337
- [86] Safi R., Kovacic A., Gaillard S., Murata Y., Simpson E.R., McDonnell D.P., Clyne C.D.: Coactivation of liver receptor homologue-1 by peroxisome proliferators-activated receptor gamma coactivator-1alpha on aromatase promoter II and its inhibition by activated retinoid X receptor suggest a novel target for breast-specific antiestrogen therapy. *Cancer Res.*, 2005; 65: 11762–11770
- [87] Saito T., Kinoshita S., Fujii T., Bandoh K., Fuse S., Yamauchi Y., Koizumi N., Horiuchi T.: Development of novel steroid sulfatase inhibitors. II. TZS-8478 potently inhibits the growth of breast tumors in postmenopausal breast cancer model rats. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 2004, 88: 167–173
- [88] Sam K.M., Boivin R.P., Tremblay M.R., Auger S., Poirier D.: C16 and C17 derivatives of estradiol as inhibitors of 17beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1: chemical synthesis and structure-activity relationships. *Drug Des. Discov.*, 1998; 15: 157–180
- [89] Santner S.J., Feil P.D., Santen R.J.: *In situ* estrogen production via the estrone sulfatase pathway in breast tumors: relative importance versus the aromatase pathway. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1984; 59: 29–33
- [90] Santner S.J., Pauley R.J., Tait L., Kaseta J., Santen R.J.: Aromatase activity and expression in breast cancer and benign breast tissue stromal cells. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1997; 82: 200–208
- [91] Sasano H., Harada N.: Intratumoral aromatase in human breast, endometrial, and ovarian malignancies. *Endocr. Rev.*, 1998; 19: 593–607
- [92] Sasano H., Miki Y., Nagasaki S., Suzuki T.: *In situ* estrogen production and its regulation in human breast carcinoma: from endocrinology to intracrinology. *Pathol. Int.*, 2009; 59: 777–789
- [93] Sasano H., Nagasaki S., Miki Y., Suzuki T.: New developments in intracrinology of human breast cancer: estrogen sulfatase and sulfotransferase. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 2009; 1155: 76–79
- [94] Schiff R., Massarweh S., Shou J., Osborne C. K.: Breast cancer endocrine resistance: how growth factor signalling and estrogen receptor co-regulators modulate response. *Clin. Cancer Res.*, 2003; 9: 447S–454S
- [95] Sebastian S., Takayama K., Shozu M., Bulun S.E.: Cloning and characterization of a novel endothelial promoter of the human CYP19 (aromatase P450) gene that is up-regulated in breast cancer tissue. *Mol. Endocrinol.*, 2002; 16: 2243–2254
- [96] Selcer K.W., Hegde P.V., Li P.K.: Inhibition of estrone sulfatase and proliferation of human breast cancer cells by nonsteroidal (p-O-sulfamoyl)-N-alkanoyl tyramines. *Cancer Res.*, 1997; 57: 702–707
- [97] Simard J., Gingras S.: Crucial role of cytokines in sex steroid formation in normal and tumoral tissues. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 2001; 171: 25–40
- [98] Simpson E.R.: Biology of aromatase in the mammary gland. *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia*, 2000; 5: 251–258
- [99] Simpson E.R., Clyne C., Rubin G., Boon W.C., Robertson K., Britt K., Speed C., Jones M.: Aromatase – a brief overview. *Annu. Rev. Physiol.*, 2002; 64: 93–127
- [100] Singh A., Reed M.J.: Insulin-like growth factor type I and insulin-like growth factor type II stimulate oestradiol-17beta hydroxysteroid dehydrogenase (reductive) activity in breast cancer cells. *J. Endocrinol.*, 1991; 129: R5–R8
- [101] Song D., Liu G., Luu-The V., Zhao D., Wang L., Zhang H., Xueling G., Li S., Désy L., Labrie F., Pelletier G.: Expression of aromatase and 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1, 7 and 12 in breast cancer. An immunocytochemical study. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 2006; 101: 136–144
- [102] Speirs V., Green A.R., Walton D.S., Kerin M.J., Fox J.N., Carleton P.J., Desai S.B., Atkin S.L.: Short-term primary culture of epithelial cells derived from human breast tumours. *Br. J. Cancer*, 1998; 78: 1421–1429
- [103] Sporn M. B., Suh N.: Chemoprevention of cancer. *Carcinogenesis*, 2000; 21: 525–530
- [104] Stanway S.J., Purohit A., Woo L.W., Sufi S., Vigushin D., Ward R., Wilson R.H., Stanczyk F.Z., Dobbs N., Kulinskaya E., Elliott M., Potter B.V., Reed M.J., Coombes R.C.: Phase I study of STX 64 (667 Coumate) in breast cancer patients: the first study of a steroid sulfatase inhibitor. *Clin. Cancer Res.*, 2006; 12: 1585–1592
- [105] Stefanick M.L.: Risk-benefit profiles of raloxifene for women. *N. Engl. J. Med.*, 2006; 355: 190–192
- [106] Stein C., Hille A., Seidel J., Rijnbout S., Waheed A., Schmidt B., Geuze H., von Figura K.: Cloning and expression of human steroid-sulfatase. Membrane topology, glycosylation, and subcellular distribution in BHK-21 cells. *J. Biol. Chem.*, 1989; 264: 13865–13872
- [107] Suzuki T., Miki Y., Nakamura Y., Moriya T., Ito K., Ohuchi N., Sasano H.: Sex steroid-producing enzymes in human breast cancer. *Endocr. Relat. Cancer*, 2005; 12: 701–720
- [108] Suzuki T., Moriya T., Ariga N., Kaneko C., Kanazawa M., Sasano H.: 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 and type 2 in human breast carcinoma: a correlation to clinicopathological parameters. *Br. J. Cancer*, 2000; 82: 518–523
- [109] Suzuki T., Nakata T., Miki Y., Kaneko C., Moriya T., Ishida T., Akinaga S., Hirakawa H., Kimura M., Sasano H.: Estrogen sulfotransferase and steroid sulfatase in human breast carcinoma. *Cancer Res.*, 2003; 63: 2762–2770
- [110] Swaby R.F., Sharma C.G., Jordan V.C.: SERMs for the treatment and prevention of breast cancer. *Rev. Endocr. Metab. Disord.*, 2007; 8: 229–239
- [111] Taylor P.R., Greenwald P.: Nutritional interventions in cancer prevention. *J. Clin. Oncol.*, 2005; 23, 333–345
- [112] Terry P., Wolk A., Persson I., Magnusson C.: Brassica vegetables and breast cancer risk. *JAMA*, 2001; 285: 2975–2977
- [113] Tremblay M.R., Boivin R.P., Luu-The V., Poirier D.: Inhibitors of type 1 17beta-hydroxysteroid dehydrogenase with reduced estrogenic activity: modifications of the positions 3 and 6 of estradiol. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, 2005; 20: 153–163
- [114] Utsumi T., Yoshimura N., Takeuchi S., Ando J., Maruta M., Maeda K., Harada N.: Steroid sulfatase expression is an independent predictor of recurrence in human breast cancer. *Cancer Res.*, 1999; 59: 377–381
- [115] Van Aswegen C.H., Purdy R.H., Wittliff J.L.: Binding of 2-hydroxyestradiol and 4-hydroxyestradiol to estrogen receptors from human breast cancers. *J. Steroid Biochem.*, 1989; 32: 485–492
- [116] Vang O.: Chemopreventive potential of compounds in cruciferous vegetables. W: *Carcinogenic and Anticarcinogenic Food Components*, ed.: W. Baer-Dubowska, A. Bartoszek, D. Malejka-Gigant. CRC Taylor&Francis Group Boca Raton FL USA, London UK, 2006; 303–328
- [117] Wang T.T., Milner M.J., Milner J.A., Kim Y.S.: Estrogen receptor alpha as a target for indole-3-carbinol. *J. Nutr. Biochem.*, 2006; 17: 659–664
- [118] Watson C.S., Gametchu B., Norfleet A.M., Cambell C.H., Thomas M.L.: Rapid, nongenomic action of estrogens. *LOWOC J.*, 1999; 1: 21–28
- [119] Wu L., Einstein M., Geissler W.M., Chan H.K., Elliston K.O., Andersson S.: Expression cloning and characterization of human 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 2, a microsomal enzyme possessing 20 α -hydroxysteroid dehydrogenase activity. *J. Biol. Chem.*, 1993; 268: 12964–12969
- [120] Yamaguchi Y.: Microenvironmental regulation of estrogen signals in breast cancer. *Breast Cancer*, 2007; 14: 175–181
- [121] Yue W., Wang J.P., Hamilton C.J., Demers L.M., Santen R.J.: *In situ* aromatization enhances breast tumor estradiol levels and cellular proliferation. *Cancer Res.*, 1998; 58: 927–932

Autorki deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.

