

JOURNAL FÜR MENOPAUSE

SEEGER H, MUECK AO, WALLWIENER D

**Vergleich der Wirkung von acht Gestagenen auf die
estradiolinduzierte Proliferation humaner Brustkrebszellen**

Journal für Menopause 2003; 10 (4) (Ausgabe für Österreich)
10-13

Journal für Menopause 2003; 10 (4) (Ausgabe für Schweiz), 12-15

Journal für Menopause 2003; 10 (4) (Ausgabe für Deutschland)
11-14

Homepage:

www.kup.at/menopause

**Online-Datenbank mit
Autoren- und Stichwortsuche**

ZEITSCHRIFT FÜR DIAGNOSTISCHE, THERAPEUTISCHE UND PROPHYLAKTISCHE ASPEKTE IM KLIMAKTERIUM

Vergleich der Wirkung von acht Gestagenen auf die estradiolinduzierte Proliferation humaner Brustkrebszellen

H. Seeger, D. Wallwiener, A. O. Mueck

Der Einfluß von Progesteron und verschiedenen synthetischen C19- und C21-Gestagenen auf die Proliferation einer menschlichen Brustkrebszell-Linie wurde untersucht. Von speziellem Interesse war dabei der Vergleich der zwei verschiedenen Regime, die bei der HRT vorwiegend angewandt werden, nämlich die sequentielle und kontinuierliche Estrogen/Gestagen-Kombination. Als Zellmodell wurde die menschliche estrogenrezeptorpositive Zell-Linie MCF-7 verwendet. Progesteron (P), Chlormadinonacetat (CMA), Dienogest (DNG), Gestoden (GSD), 3-Keto-Desogestrel (KDG), Levonorgestrel (LNG), Medroxyprogesteronacetat (MPA) und Norethisteron (NET) wurden sowohl im therapeutischen als auch im pharmakologischen Konzentrationsbereich in sequentieller und kontinuierlicher Kombination mit Estradiol untersucht. Die Zellproliferation wurde mittels ATP-Chemosensitivitäts-Test bestimmt. In sequentieller Kombination mit Estradiol war nur CMA in der Lage, über den gesamten Konzentrationsbereich eine Hemmwirkung zu erzielen. Ähnliche Effekte wurden für DNG, GSD und KDG gefunden, wohingegen P und MPA nur in der höchsten Konzentration von 10 µM eine Hemmung bewirkten. LNG und NET zeigten keine signifikante Hemmwirkung bei sequentieller Kombination. Bei kontinuierlicher Kombination mit Estradiol zeigten P, CMA, GSD, KDG und LNG eine Hemmwirkung über den gesamten Konzentrationsbereich. Für DNG und MPA wurden nur geringe Wirkungen festgestellt, wohingegen NET keine signifikanten Effekte zeigte. Unsere Ergebnisse deuten darauf hin, daß sowohl Gestagenart als auch Applikationsmodus das Brustkrebsrisiko unter HRT beeinflussen können. Allerdings sind die Hemmwirkungen sämtlicher getesteten Gestagene in den klinisch relevanten Konzentrationen relativ gering, so daß bezweifelt werden kann, ob unter HRT eine Risikoreduzierung von Brustkrebs erzielt wird. Andererseits ist unter den getesteten experimentellen Bedingungen in der Kombination dieser Gestagene mit Estradiol keine Stimulierung zu beobachten. Die in einigen klinischen Studien beobachtete, in Absolutzahlen allerdings nur marginale, Risikohöherung deutet jedoch darauf hin, daß gewisse individuelle Bedingungen zu einer gestagenbedingten Proliferation führen können. Daher erscheinen auch im experimentellen Bereich weitergehende Untersuchungen, z. B. zu Stroma-Effekten, notwendig.

Schlüsselwörter: Estradiol, Gestagene, Proliferation, MCF-7-Zellen

Comparison of the Effect of Eight Progestogens on the Estradiol-Induced Proliferation of Human Breast Cancer Cells. The influence of progesterone and different synthetic C19- and C21-progestins on the proliferation of a human breast cancer cell line was examined. Of special interest was the comparison of the two different regimes, that are mainly used for HRT, i.e. the sequential and continuous estrogen/progesterone combination. As a cell model, the human estrogen-receptor positive cell line MCF-7 was used. Progesterone (P), chlormadinone acetate (CMA), dienogest (DNG), gestodene (GSD), 3-keto-desogestrel (KDG), levonorgestrel (LNG), medroxyprogesterone acetate (MPA) and norethisterone (NET) were examined both in the therapeutic and in the pharmacological concentration range in sequential and continuous combination with estradiol. Cell proliferation was determined using the ATP-chemosensitivity test. Sequentially combined with estradiol, only CMA inhibited cell proliferation over the whole concentration range. Similar effects were found for DNG, GSD and KDG, whereas P and MPA only caused an inhibition in the highest concentration of 10 µM. LNG and NET showed no significant inhibitory effect in sequential combination. In continuous combination with estradiol, P, CMA, GSD, KDG and LNG showed an inhibitory effect over the whole concentration range. DNG and MPA reduced cell proliferation only at 10 µM whereas NET had no significant effect. Our results indicate that both the progestogen type and application mode may influence breast cancer risk under HRT. However, the inhibitory effects of all tested progestogens are relatively moderate in the clinically relevant concentrations so that it can be doubted, whether under HRT a risk reduction is obtained for breast cancer. On the other hand no stimulation was observed under the tested experimental conditions in the combination of these progestogens with estradiol. The risk increase as observed in some clinical studies, which in absolute numbers is only marginal, indicates, however, that certain individual conditions may lead to a progestogen-induced proliferation. Therefore, also in the experimental research area additional investigations, i.e. on stromal effects, appear to be necessary. *J Menopause* 2003; 10 (4): 10-3.

Key words: Estradiol, progestogens, proliferation, MCF-7 cells

Die Proliferation epithelialer Zellen der menschlichen Brust steht unter dem Einfluß und der Kontrolle von Sexualhormonen, das Risiko für Brustkrebs gilt als wichtigste potentielle Nebenwirkung einer Hormontherapie [1].

Die Diskussion darüber, inwieweit speziell die Gestagenzugabe bei der Hormontherapie dieses Risiko erhöht, besteht schon lange [2]. Nachdem aber der Estrogenmonarm der WHI-Studie bekanntlich noch nicht abgebrochen wurde, ist diese Diskussion aktuell erneut entbrannt. Jedoch sind auch neuere Studien aufgrund zu geringer Fallzahlen in den statistisch entscheidenden Subgruppen nur sehr bedingt in der Lage, zur Aufklärung beizutragen. Dieses Problem besteht für beide momentan hauptsächlich gebrauchten HRT-Regime, d. h. für die sequentielle wie auch die kontinuierlich kombinierte Estrogen/Gestagen-Therapie.

Obwohl *In-vitro*-Studien klinische Studien nie ersetzen können, tragen sie wesentlich dazu bei, Mechanismen aufzuklären. Daher haben wir die Wirkung des natürlichen

Gestagens, Progesteron, und jene von sieben synthetischen Gestagenen, die entweder schon für die HRT oder für die Kontrazeption eingesetzt werden, beziehungsweise sich momentan in klinischen Studien für eine HRT-Anwendung befinden, auf die estradiolinduzierte Proliferation der humanen Brustkrebszell-Linie MCF-7 untersucht. Der Gestagenzusatz wurde dabei in sequentieller und kontinuierlicher Kombination mit Estradiol geprüft.

Material und Methoden

Estradiol, Progesteron, Chlormadinonacetat, Medroxyprogesteronacetat und Norethisteron wurden von der Firma Sigma bezogen. Gestoden, 3-Keto-Desogestrel und Levonorgestrel wurden von Wyeth Pharma GmbH und Dienogest von Jenapharm GmbH & Co. KG zur Verfügung gestellt. Die Steroide wurden in Ethanol aufgelöst und durch Ethanol/PBS-Mischungen verdünnt, um eine endgültige Ethanolkonzentration von < 1 % pro Well zu ergeben. MCF-7,

Aus der Universitäts-Frauenklinik Tübingen, Schwerpunkt für Endokrinologie und Menopause

Korrespondenzadresse: PD Dr. Dr. A. O. Mueck, Leiter des Schwerpunktes für Endokrinologie und Menopause, Universitäts-Frauenklinik, Calwerstraße 7, D-72076 Tübingen; E-Mail: endo.meno@med.uni-tuebingen.de

eine humane, estrogen- und gestagenrezeptorpositive Brustkrebszelllinie, wurde von ECACC, GB, bezogen.

Die Zellen wurden in DMEM modifiziert mit 5 % (v/v) fötalem Kälberserum, 0,3 mg/ml Glutamin, 5 ng/ml Rinderinsulin, 100 U/ml Penicillin und 100 mg/ml Streptomycin kultiviert. 96er-Platten wurden mit ungefähr 1000 MCF-7 pro Well in Kulturmedium ausgesät. Anschließend wurden die Zellen mit Medium, das mit Aktivkohle/Dextran behandeltes Serum enthält, für 3 Tage kultiviert. Um eine sequentielle bzw. kontinuierlich kombinierte HRT zu imitieren, wurden die Zellen entweder mit 10^{-10} M Estradiol für 3 Tage und dann mit einer Estradiol/Gestagen-Kombination für 4 Tage oder sofort mit einer Estradiol/Gestagen-Kombination für 7 Tage inkubiert. Die Gestagene wurden in den Konzentrationen von 0,01 nM, 1 nM, 0,1 μ M und 10 μ M getestet. Nach Inkubation für 7 Tage wurde die Zellproliferation mittels ATP-Chemosensitivitätstest bestimmt [3]. Die statistische Analyse wurde mittels ANOVA und anschließendem Student's-t-Test mit den logarithmierten Werten durchgeführt.

Ergebnisse

Estradiol allein bewirkte in einer Konzentration von 10^{-10} M eine 2- bis 3fache Zunahme der Zellproliferation gegenüber dem Kontrollwert. In Abbildung 1 sind die Ergebnisse der sequentiellen Estradiol/Gestagen-Kombination dargestellt. Die estradiolinduzierte Zunahme wurde durch die verschiedenen Gestagene unterschiedlich beeinflusst: Progesteron hemmte die Zellproliferation nur in der höchsten Konzentration von 10 μ M um 23 %. CMA verringerte die estradiolinduzierte Proliferation über den gesamten getesteten Konzentrationsbereich, die Werte lagen zwischen 10 und 23 %. DNG zeigte eine zunehmende hemmende Wirkung mit ansteigender Konzentration, die Werte lagen zwischen 4 und 15 %. GSD und KDG verringerten die Zellproliferation in den Konzentrationen 0,01 nM, 1 nM und 0,1 μ M, während keine Hemmung bei 10 μ M gefunden wurde. LNG und NET konnten die estradiolinduzierte Zellproliferation nicht signifikant reduzieren. Für MPA wurde nur bei der höchsten Konzentration von 10 μ M eine hemmende Wirkung beobachtet.

Die kontinuierliche Estradiol/Gestagen-Kombination zeigte jene Ergebnisse, die in Abbildung 2 dargestellt sind. Für alle Estradiol/Gestagen-Kombinationen konnte eine

signifikante Hemmung der Zellproliferation gefunden werden. Die Werte für P waren im Bereich von 20 bis 40 %, für CMA zwischen 8 und 25 %, für DNG 5 bis 12 %, für GSD zwischen 18 und 32 %, für KDG 10 bis 25 %, für LNG 5 bis 23 %, für MPA 3 bis 23 % und für NET zwischen 5 und 8 %.

Diskussion

Zellkulturversuche ergeben oftmals verschiedenartige Ergebnisse, die von den genauen experimentellen Bedingungen abhängen. Das Ziel der vorliegenden Untersuchung war, erstmals in einem identischen experimentellen Modell die Wirkung verschiedener Gestagene auf die estradiolinduzierte Proliferation menschlicher Brustkrebszellen zu untersuchen. Dabei stand der Vergleich einer sequentiellen Kombination mit derjenigen einer kontinuierlichen Kombination im Vordergrund. Die Ergebnisse dieser *In-vitro*-Experimente deuten auf ein unterschiedliches Verhalten von Progesteron und verschiedenen Vertretern der synthetischen C19- und C21-Gestagene auf die estradiolinduzierte Proliferation hin. Auch konnten Unterschiede zwischen einer sequentiellen und einer kontinuierlich kombinierten Gabe verzeichnet werden.

Von den C21-Steroiden zeigte Progesteron sequentiell kombiniert nur in der höchsten Dosierung von 10 μ M eine geringfügige Hemmung, wohingegen bei kontinuierlicher Gabe zu Estradiol eine dosisabhängige inhibitorische Wirkung gefunden wurde. Chlormadinonacetat war ähnlich effektiv in beiden Regimen. MPA schließlich bewirkte sowohl bei sequentieller als auch bei kontinuierlicher Kombination nur bei der höchsten Konzentration eine marginale Hemmwirkung.

Für die C19-Gestagene Dienogest, Gestoden, 3-Keto-Desogestrel, Levonorgestrel und Norethisteron wurden ebenfalls differierende Reaktivitäten beobachtet. Dienogest, ein neues C19-Gestagen mit antiandrogenen Eigenschaften, zeigte einen geringen hemmenden Effekt auf die estradiolinduzierte Proliferation unabhängig von der Kombinationsart. Die C19-Gestagene der sogenannten dritten Generation, Gestoden und 3-Keto-Desogestrel, reagierten sowohl bei sequentieller als auch bei kontinuierlicher Kombination in der Hemmwirkung ähnlich. Für Levonorgestrel fand sich bei sequentieller Kombination keine Hemmwirkung, wohingegen bei kontinuierlicher Gabe eine relativ starke Hemmung zu verzeichnen war. Norethisteron hingegen bewirkte in

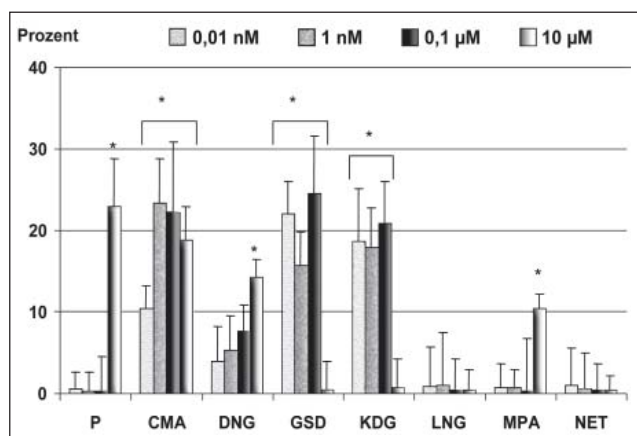


Abbildung 1: Hemmung der estradiolinduzierten (10^{-10} M) Proliferation von MCF-7-Zellen durch verschiedene Gestagene sequentiell kombiniert mit Estradiol.

P: Progesteron, **CMA:** Chlormadinonacetat, **DNG:** Dienogest, **GSD:** Gestoden, **KDG:** 3-Keto-Desogestrel, **LNG:** Levonorgestrel, **MPA:** Medroxyprogesteronacetat, **NET:** Norethisteron (Mittelwert \pm SD; * $p < 0,05$; $p < 0,01$ vs. Estradiol allein)

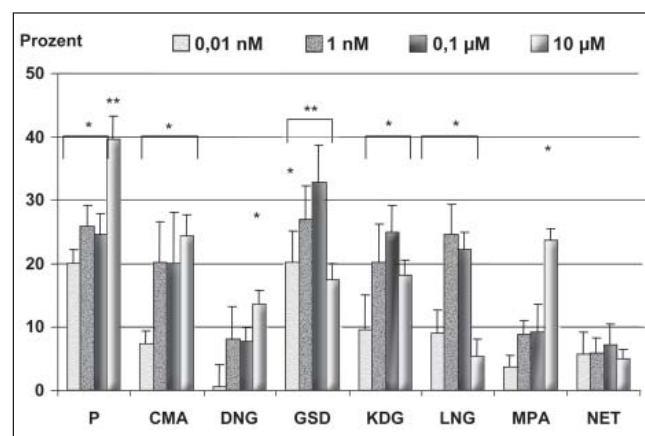


Abbildung 2: Hemmung der estradiolinduzierten (10^{-10} M) Proliferation von MCF-7-Zellen durch verschiedene Gestagene kontinuierlich kombiniert mit Estradiol.

P: Progesteron, **CMA:** Chlormadinonacetat, **DNG:** Dienogest, **GSD:** Gestoden, **KDG:** 3-Keto-Desogestrel, **LNG:** Levonorgestrel, **MPA:** Medroxyprogesteronacetat, **NET:** Norethisteron (Mittelwert \pm SD; * $p < 0,05$; $p < 0,01$ vs. Estradiol allein).

beiden Kombinationsarten eine ähnliche Hemmwirkung, die allerdings sehr gering war.

Frühere Zellkulturstudien hinsichtlich der Proliferationswirkung dieser Gestagene erbrachten folgende Ergebnisse: Progesteron zeigte keine bedeutsame Hemmwirkung innerhalb eines Konzentrationsbereichs von 10^{-7} M bis 10^{-12} M bei An- bzw. Abwesenheit von Estradiol [4]. Unserer Erkenntnis nach ist die Wirkung von CMA und Dienogest bei MCF-7-Zellen noch nicht untersucht worden. Für die Zelllinie ZR-75-1, die ebenfalls Estrogen- und Progesteronrezeptoren exprimiert, war für CMA eine Hemmung der Zellproliferation beobachtet worden [5]. 3-Keto-Desogestrel und Gestoden waren in der Lage, die Proliferation von MCF-7-Zellen in der Abwesenheit von Estradiol zu hemmen. Allerdings war bei Anwesenheit von Estradiol die inhibitorische Wirkung in einem spezifischen Subklon [6] eingeschränkt. Für Levonorgestrel wurde die estradiolinduzierte Proliferation nur in besonderen Subgruppen von MCF-7-Zellen gehemmt [6]. In zwei Studien wurde die Wirkung von MPA auf die estradiolstimulierte Proliferation von MCF-7-Zellen untersucht [6, 7], beide haben eine Hemmung in den höheren MPA-Konzentrationen gezeigt. Catherino et al. [8] fanden für NET kombiniert mit Estradiol eine antiproliferative Wirkung. In der Studie von Schoonen et al. [6] zeigte NET in Kombination mit Estradiol keine bedeutsame Hemmung auf.

Einige klinische Studien untersuchten die Wirkung einer ERT und HRT auf die Proliferation des normalen Brustepithels. In einer kleinen Studie war für Progesteron bei 14tägiger Kombination mit Estradiol eine geringfügige Hemmung der Proliferation festgestellt worden [9]. Hargreaves et al. fanden weder für Estrogen allein noch für die Kombination mit verschiedenen Gestagenen, wie Norethisteron, Levonorgestrel, Tibolon und MPA, eine signifikante Veränderung bei einer Behandlung postmenopausaler Frauen von bis zu 5,5 Jahren [10]. Im Gegensatz dazu wurde in einer neuen klinischen Studie für MPA in Kombination mit konjugierten equinen Estrogenen eine epitheliale Proliferation bei einer Behandlung von bis zu 20 Jahren beobachtet [11]. Diese Daten stimmen mit Tierversuchen überein, die die mitogene Wirkung einer Estrogen/MPA-Kombination untersuchten [12, 13]. Somit bleibt nach wie vor die Rolle der Gestagenwirkung auf die Epithelproliferation der normalen Brust unklar, Unterschiede hinsichtlich der Gestagenart scheinen jedoch von Bedeutung zu sein.

Vor der WHI-Studie [14] waren die meisten epidemiologischen Studien zu HRT und Brustkrebsrisiko entweder ausschließlich oder hauptsächlich mit einer Estrogenmonotherapie durchgeführt worden [15–19]. Bei Verwendung einer kombinierten Estrogen/Gestagen-Therapie war zwischen den einzelnen eingesetzten Gestagenen oft nicht unterschieden worden. In den Studien, bei denen zwischen verschiedenen Gestagenen differenziert wurde, wie zum Beispiel die Magnusson-Studie [17], sind die Fallzahlen zu klein für eine statistisch fundierte Schlußziehung. In der Magnusson-Studie war die kurzfristige Anwendung von weniger als 2 Jahren mit einem geringeren Risiko für die kontinuierliche HRT vergesellschaftet, wohingegen die längere Applikation von 10 Jahren und mehr ein geringeres Risiko für die sequentielle HRT anzeigte. In einer neuen französischen Studie [20], bei der eine kontinuierliche Anwendung von transdermalem Estradiolgel mit verschiedenen Gestagenen außer MPA ausgewertet wurde, fand sich kein signifikanter Anstieg gegenüber der Kontrollgruppe. Somit dürfte die Diskussion um die Art des Gestagens noch nicht beendet sein.

Um die Ergebnisse aus den *In-vitro*-Daten hinsichtlich einer möglichen Wirksamkeit der verschiedenen Gestagene

auf das Brustkrebsrisiko besser beurteilen zu können, ist es nützlich, die entsprechenden Serumkonzentrationen zu kennen. Für die momentan am häufigsten in der HRT eingesetzten Gestagene, MPA und NETA, finden sich Blutkonzentrationen im Bereich von 4×10^{-9} M bis 10^{-8} M für MPA [21] und um 10^{-8} M [22] für NETA. Gemäß unseren Ergebnissen scheinen diese Gestagene in diesem Konzentrationsbereich nicht in der Lage zu sein, das Brustkrebsrisiko signifikant zu verringern. Für die anderen Gestagene, P, LNG, DNG, GSD, CMA und KDG, müssen ähnliche Konzentrationen erwartet werden. Folglich scheint im klinisch relevanten Konzentrationsbereich eine antiproliferative Wirkung insbesondere für die Gestagene GSD und KDG zu erwarten zu sein.

Für die Klinik ist es auch von Interesse, daß neuen Studien zufolge das Brustkrebsrisiko vom Estradiolstoffwechsel beeinflusst werden könnte [23, 24], wobei exogene Faktoren, z. B. Rauchen, in den Estradiolstoffwechsel eingreifen und folglich das Risiko [25] verändern könnten. In eigenen Untersuchungen haben wir für Estradiolmetaboliten sowohl proliferative als auch antiproliferative Wirkungen auf MCF-7-Zellen [26] gefunden. Andererseits beeinflusst eine HRT den Estradiolmetabolismus durch die Applikationsart [27] sowie durch die Gestagenzugabe [28].

Auffallend ist, daß in den hier zitierten Experimenten keine Stimulation der Zellproliferation durch die Gestagene beobachtet wurde. Gründe dieser Diskrepanz zu den epidemiologischen Studien könnten zum einen Langzeiteffekte sein, zum anderen aber auch Stroma-Epithelium-Interaktionen, bei denen Wachstumsfaktoren und deren Rezeptorexpression eine Rolle spielen. Allerdings haben wir in eigenen Untersuchungen festgestellt, daß Estrogene den wichtigsten primären mitogenen Faktor hinsichtlich Brustkrebszell-Wachstum darstellen. Des weiteren scheint die Kombination von Gestagenen, insbesondere von MPA, mit Komponenten der equinen konjugierten Estrogene, eine Stimulierung fördern zu können, wie von uns *in vitro* beobachtet wurde [29]. Ein möglicher Einfluß der Estrogen- und Applikationsart wird auch durch die Autoren einer kürzlich publizierten französischen Studie unterstrichen, in der bei über 3000 Frauen kein Risikoanstieg gefunden wurde, wobei verschiedene Gestagene außer MPA mit transdermalem Estradiolgel kombiniert worden waren [29]. Vermutlich sind spezielle individuelle Konstellationen notwendig, z. B. lokale Produktion von Wachstumsfaktoren und deren Rezeptorexpression und Tumormorphologie, um eine Risikoerhöhung durch den Gestagenzusatz zu beobachten. Dies impliziert, daß sehr große Fallzahlen in klinischen Studien notwendig sind, um solche Risiken klinisch zu erfassen, insbesondere in den relevanten Subgruppen.

Zusammenfassend ist zu konstatieren, daß die Ergebnisse der vorliegenden *In-vitro*-Untersuchungen darauf hindeuten, daß die Gestagene das Brustkrebsrisiko unterschiedlich beeinflussen können. Dabei dürfte auch die Art der Kombination mit dem Estrogen – sequentiell oder kontinuierlich – von Bedeutung sein. Die inhibitorische Wirkung der hier untersuchten Gestagene scheint aber eher minimal zu sein, so daß eine signifikante Hemmung in Kombination mit Estradiol eher fraglich erscheint. Eine Stimulierung des Tumorstwachstums durch Gestagene wurde *in vitro* nicht beobachtet und dürfte somit *in vivo* von individuellen Bedingungen abhängig sein. Nach wie vor werden also klinische Studien mit großen Fallzahlen gebraucht, die die individuellen Risiken der Gestagenzugabe hinsichtlich des Brustkrebses untersuchen.

Literatur:

1. Flötotto T, Djahansouzi S, Gläser M, Hanstein B, Niederacher D, Brumm C, Beckmann MW. Hormones and hormone antagonists: Mechanisms of action in carcinogenesis of endometrial and breast cancer. *Horm Metab Res* 2001; 33: 451–7.
2. Bergkvist L, Adami HO, Persson I, Bergström R, Krusemo UB. Prognosis after breast cancer diagnosis in women exposed to estrogen and estrogen-progestogen replacement therapy. *Am J Epidemiol* 1989; 130: 221–8.
3. Andreotti PE, Thornthwaite JT, Morse IS. ATP Tumor Chemosensitivity Assay. In: Stanley PE, Kricka LJ (eds). *Bioluminescence and Chemoluminescence: Current Status*. Chichester, J. Wiley & Sons, 1991; 417–20.
4. Schatz RW, Soto AM, Sonnenschein C. Effects of interaction between estradiol-17 beta and progesterone on the proliferation of cloned breast tumor cells (MCF-7 and T47D). *J Cell Physiol* 1985; 124: 386–90.
5. Poulin R, Baker D, Poirier D, Labrie F. Multiple actions of synthetic progestins on the growth of ZR-75-1 human breast cancer cells: an in vitro model for the simultaneous assay of androgen, progestin, estrogen, and glucocorticoid agonistic and antagonistic activities of steroids. *Breast Cancer Res Treat* 1991; 17: 197–210.
6. Schoonen WGEJ, Joosten JWH, Kloosterboer HJ. Effects of two classes of progestagens pregnane and 19-nortestosterone derivatives, on cell growth of human breast tumor cells: I. MCF-7 cell lines. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1995; 55: 423–37.
7. Cappelletti V, Miodini P, Fioravanti L, DiFronzo G. Effect of progestin treatment on estradiol- and growth factor-stimulated breast cancer cell lines. *Anticancer Res* 1995; 15: 2551–6.
8. Catherino WH, Jeng MH, Jordan VC. Norgestrel and gestodene stimulate breast cancer cell growth through an estrogen receptor mediated mechanism. *Brit J Cancer* 1993; 67: 945–52.
9. Foidart JM, Colin C, Denoo X, Desreux J, Beliard A, Fournier S, de Lignieres B. Estradiol and progesterone regulate the proliferation of human breast epithelial cells. *Fertil Steril* 1998; 69: 963–9.
10. Hargreaves DF, Knox F, Swindell R, Potten CS, Bundred NJ. Epithelial proliferation and hormone receptor status in the normal post-menopausal breast and the effects of hormone replacement therapy. *Br J Cancer* 1998; 78: 945–9.
11. Hofseth LJ, Raafat AM, Osuch JR, Pathak DR, Slomski CA, Haslam SZ. Hormone replacement therapy with estrogen or estrogen plus medroxyprogesterone acetate is associated with increased epithelial proliferation in the normal postmenopausal breast. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 4559–65.
12. Wang S, Counterman LJ, Haslam SZ. Progesterone action in normal mouse mammary gland. *Endocrinology* 1990; 127: 2183–9.
13. Cline JM, Soderqvist G, von Schoultz E, Skoog L, von Schoultz B. Effects of conjugated estrogens, medroxyprogesterone acetate, and tamoxifen on the mammary glands of macaques. *Br Cancer Res Treat* 1998; 48: 221–9.
14. Writing Group for the Women's Health Initiative Investigators. Risks and Benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women. *JAMA* 2002; 288: 321–33.
15. Ewertz M. Influence of non-contraceptive exogenous and endogenous sex hormones on breast cancer risk in Denmark. *Int J Cancer* 1988; 42: 832–8.
16. Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. Breast cancer and hormone replacement therapy: collaborative reanalysis of data from 51 epidemiological studies of 52.705 women with breast cancer and 108.411 women without breast cancer. *Lancet* 1997; 350: 1047–59.
17. Magnusson C, Baron JA, Correia N, Bergström R, Adami HO, Persson I. Breast-cancer risk following long-term oestrogen- and oestrogen-progestin-replacement therapy. *Int J Cancer* 1999; 81: 339–44.
18. Schairer C, Lubin J, Troisi R, Sturgeon S, Brinton L, Hoover R. Menopausal estrogen and estrogen-progestin replacement therapy and breast cancer risk. *JAMA* 2000; 283: 485–91.
19. Ross RK, Paganini-Hill A, Wan PC, Pike MC. Effect of hormone replacement therapy on breast cancer risk: estrogen versus estrogen plus progestin. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92: 328–32.
20. De Lignieres B, De Vathaire F, Fournier S, Urbinelli R, Allaert F, Le MG, Kuttent F. Combined hormone replacement therapy and risk of breast cancer in a French cohort study of 3175 women. *Climacteric* 2002; 5: 332–40.
21. Svensson LO, Johnson SH, Olsson SE. Plasma concentrations of medroxyprogesterone acetate, estradiol and estrone following oral administration of Klimaxil®, Trisequence®/Provera®, and Divina®. A randomized, single-blind, triple cross-over bioavailability study in menopausal women. *Maturitas* 1994; 18: 229–38.
22. Stanczyk FZ, Brenner PF, Mishell DR, Ortiz A, Gentszsch EKE, Goebelsmann U. A radioimmunoassay for norethindrone (NET): measurement of serum net concentrations following ingestion of NET-containing oral contraceptive steroids. *Contraception* 1978; 18: 615–33.
23. Meilahn EN, De Stavol B, Allen DS, Fentiman I, Bradlow HL, Stepkovic DW, Kuller LH. Do urinary oestrogen metabolites predict breast cancer? Guernsey III cohort follow-up. *Br J Cancer* 1998; 78: 1250–5.
24. Muti P, Bradlow HL, Micheli A, Krogh V, Freudenheim JL, Schunemann HJ, Stanulla M, Yang J, Sepkovic DW, Trevisan M, Berrino F. Estrogen metabolism and risk of breast cancer: a prospective study of 2:16 alpha-hydroxyestrone ratio in premenopausal and postmenopausal women. *Epidemiology* 2000; 11: 635–40.
25. Berstein LM, Tsyrlina EV, Kolesnik OS, Gamajunova VB, Adlercreutz H. Catecholestrogens excretion in smoking and non-smoking postmenopausal women receiving estrogen replacement therapy. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2000; 72: 143–7.
26. Lippert C, Seeger H, Mueck AO. The effect of endogenous estradiol metabolites on the proliferation of human breast cancer cells. *Life Sci* 2003; 72: 877–83.
27. Seeger H, Mueck AO, Lippert TH. Estradiol metabolism during oral and transdermal estradiol replacement therapy in the postmenopause. *Horm Metab Res* 1998; 30: 598–601.
28. Seeger H, Mueck AO, Lippert TH. Effect of norethisterone acetate on estrogen metabolism in postmenopausal women. *Horm Metab Res* 2000; 32: 436–9.
29. Mueck AO, Seeger H, Wallwiener D. Comparison of the proliferative effect of estradiol and conjugated equine estrogens on human breast cancer cells and impact of continuous combined progestogen addition. *Climacteric* 2003; 6: 221–7.

Privatdozent Dr. rer. nat. Diplom-Chemiker Harald Seeger

Geboren 1953 in Stuttgart. Studium der Chemie an der Universität Tübingen. Seit 1986 wissenschaftlicher Angestellter in der Sektion für Klinische Pharmakologie in Gynäkologie und Geburtshilfe der Universitäts-Frauenklinik Tübingen. Seit 1999 wissenschaftlicher Angestellter im Schwerpunkt für Endokrinologie und Menopause der Universitäts-Frauenklinik Tübingen. Habilitation und Venia legendi 2001 für das Fach „Experimentelle gynäkologische Endokrinologie“ an der Medizinischen Fakultät der Universität Tübingen (Thema: Untersuchungen über den endogenen Estradiolmetabolismus und dessen Einfluß auf das Gefäßsystem).

Wissenschaftliche Themenschwerpunkte: Grundlagenforschungen über direkte Gefäßwirkungen von Sexualsteroiden und Statin-Hormon-Kombinationen, Estrogene und Karzinogenese sowie Estradiolmetabolismus. Über 100 Publikationen in Fachjournals.



ANTWORTFAX

JOURNAL FÜR MENOPAUSE

Hiermit bestelle ich

ein Jahresabonnement
(4 Ausgaben) zum Preis
von € 36,- (Stand 1.1.2007)
(im Ausland zzgl. Versandkosten)

Name

Anschrift

Datum, Unterschrift

Einsenden oder per Fax an:

Krause & Pachernegg GmbH, Verlag für Medizin und Wirtschaft,
Postfach 21, A-3003 Gablitz, **FAX: +43 (0) 2231 / 612 58-10**

Bücher & CDs
Homepage: www.kup.at/buch_cd.htm

Unsere Sponsoren:

BANCA Real Invest

Real Invest Austria.
Der erste österreichische Immobilienfonds.

☎ 01/331 71-9000
oder www.realinvest.at.