



Universitat Autònoma
de Barcelona



GRUPO MULTIDISCIPLINARIO PARA
EL ESTUDIO DEL CÁNCER DE MAMA

DIETA Y CÁNCER DE MAMA **ASPECTOS CLÍNICOS, MORFOLÓGICOS Y MECANISMOS** **MOLECULARES DE ACCIÓN IMPLICADOS**

Dr. E. Escrich.
Dras. M. Solanas, R. Moral.

El cáncer de mama es el más frecuente entre las mujeres en la mayoría de los países industrializados. Estudios epidemiológicos y experimentales muestran la influencia de los factores ambientales en la etiología de dicha neoplasia. Entre ellos destacan los nutricionales por la continua exposición a la que puede estar sometida la población por sus hábitos dietéticos. Los lípidos (grasas) de la dieta constituyen uno de los factores nutricionales más estudiados en relación al cáncer de mama, aunque sus mecanismos de acción no son bien conocidos.

El Grupo Multidisciplinario para el Estudio del Cáncer de Mama (GMECM) se consolidó como tal en el año 1986 en torno al proyecto de investigación "Lípidos de la dieta y cáncer de mama". Dicho Grupo está registrado como Asociación de Investigación (Reg. nº 11.231) en la "Direcció General de Dret i d'Entitats Jurídiques, del Departament de Justícia de la Generalitat de Catalunya" y tiene su sede en la Unidad de Fisiología de la Facultad de Medicina de la Universidad Autònoma de Barcelona. Sus objetivos y su infraestructura material y humana fueron reconocidos a partir de 1994 por la Generalitat de Catalunya como Red Temática de Estudio del Cáncer de Mama y como Grupo de Investigación Reconocido de Calidad (2009SGR190), ambos dentro del Plan de Investigación de Cataluña.

Las investigaciones del GMECM sobre la influencia de los lípidos de la dieta en el cáncer de mama se han desarrollado fundamentalmente utilizando un modelo experimental de cáncer de mama (1). Una vez comprobada la validez de dicho modelo para la posible aplicación de los resultados obtenidos en el cáncer de mama humano (2), y definidas y validadas las dietas experimentales, normal e hiperlipídicas (3,4), se procedió al estudio de los efectos de los lípidos de la dieta, en cantidades normales o en exceso, sobre el cáncer de mama experimental. Para ello se definieron 8 parámetros clínicos para el estudio de la carcinogénesis en función del tipo y la cantidad de lípido administrado. Fue necesario encontrar métodos apropiados de análisis para comparar las curvas de las diferentes funciones (5-7), problema todavía no resuelto en la literatura internacional por lo que sigue en estudio en el momento actual (8). Con el objetivo de verificar los resultados encontrados en los modelos experimentales y encontrar su aplicabilidad a la problemática del cáncer de mama humano, el Grupo Investigador ha realizado también estudios en líneas celulares y tumores humanos. Una breve exposición de la contribución en esta línea de investigación se halla descrita más adelante en el texto.

En relación a los estudios experimentales *in vivo*, en las 16 series desarrolladas hasta el momento actual, los resultados han sido siempre concluyentes: las dietas con un elevado contenido en ácidos

grasos poliinsaturados (PUFA) n-6 ejercen un claro efecto estimulador de la carcinogénesis mamaria experimental, fundamentalmente durante la etapa de la promoción, aunque no descartan la influencia a nivel de la iniciación. En contraposición al claro efecto estimulador de este tipo de dietas, se ha demostrado el papel modulador negativo, posiblemente protector, del aceite de oliva virgen en la aparición y la progresión del cáncer de mama. Así, los grupos de animales alimentados con una dieta rica en aceite de oliva presentan significativamente un retraso en la aparición de la enfermedad cancerosa (mayor tiempo de latencia), una menor incidencia de individuos afectados respecto al grupo del aceite de semillas, rico en PUFA n-6, aunque mayor a la del grupo control, y menores contenido y volumen tumorales que el resto de los grupos experimentales, incluido el control. Algunos resultados han sugerido que el aceite de oliva también podría ejercer un efecto débilmente promotor si está en cantidades muy elevadas (9-17).

El efecto diferencial de los distintos tipos de lípidos de la dieta en el cáncer de mama se ha caracterizado también morfológicamente mediante un análisis histopatológico exhaustivo de los tumores mamarios de los distintos grupos experimentales. El estudio se basa en el análisis de 9 parámetros y un nuevo método de estadiaje de los tumores, adaptado a los tumores experimentales, propuesto por el Grupo (18,19). Previamente, se demostró la correspondencia entre el patrón histopatológico específico de cada tumor y sus características clínicas, constatándose que los tumores de mayor agresividad biológica eran de mayor grado histopatológico de malignidad y presentaban mayores reacción desmoplásica, infiltrado linfoplasmocitario, necrosis tumoral y predominio del patrón arquitectural cribiforme (18,20,21). A continuación, se pudo demostrar que el diferente efecto modulador de los lípidos de la dieta se corresponde no sólo con un diferente comportamiento clínico tumoral sino también con diferentes características histopatológicas. Así, las dietas hiperlipídicas de aceite de semillas, sobre todo cuando actúan como promotoras, se asocian con adenocarcinomas de mayor grado de malinidad histológica, invasión estromal y necrosis tumoral más prominente y patrón cribiforme prevalente, en comparación con las dietas control e hiperlipídica de aceite de oliva. Los adenocarcinomas de este último grupo exhiben un grado histológico bajo, pocas áreas invasivas y necróticas, similar a la situación control, y presentan un mayor porcentaje de áreas papilares. Por tanto, los tumores de los grupos de aceite de semillas presentan un mayor grado de malignidad morfológica que los tumores control y los del aceite de oliva, lo cual es compatible con el mayor grado de malignidad clínica de los primeros y con el efecto no promotor del aceite de oliva (19).

En base a los resultados obtenidos y a las evidencias, principalmente epidemiológicas, del papel potencialmente quimiopreventivo del aceite de oliva virgen, la principal fuente de grasas en los países Mediterráneos, como España, se plantearon las siguientes fases del proyecto. El principal objetivo de las mismas fue, y sigue siendo, investigar los mecanismos moleculares implicados en los efectos de tales lípidos de la dieta sobre el cáncer de mama. Todos los mecanismos descritos han sido puestos en relación con la clínica y la histopatología de los tumores para verificar su verdadera implicación en la etiopatogenia de la enfermedad. Además, el Equipo Investigador ha abordado el tema desde diversas perspectivas. En primer lugar, y basándose en la hormonodependencia que caracteriza el cáncer de mama, se estudió el posible efecto de los lípidos a nivel hormonal, no encontrándose modificaciones ni en los niveles plasmáticos de las principales hormonas reguladoras del desarrollo mamario (gonadotropinas hipofisarias, estrógenos, progestágenos, glucocorticoides, prolactina e insulina), ni en el contenido tumoral de receptores esteroideos ($RE\alpha$, $RE\beta_1$, $RE\beta_2$, RP_A , RP_B) (22,23,24). Por tanto, ni tales hormonas ni sus receptores estarían implicados en los mecanismos por los cuales los lípidos de la dieta modulan el crecimiento del cáncer de mama. Asimismo, se estudiaron diversos parámetros bioquímicos plasmáticos de los individuos de los diferentes grupos experimentales, hallándose únicamente un efecto hipocolesterimiente de ambas dietas. En cambio, el estudio del efecto de dichos lípidos en la composición tumoral en ácidos grasos proporcionó resultados relevantes. El análisis de 14 ácidos grasos en 6 fracciones lipídicas mostró que en dichas

fracciones se esterifican ácidos grasos diferentes y en cantidades distintas (fundamentalmente el ácido linoleico [18:2n-6] -mayor contenido- y el ácido oleico [18:1n-9] -menor contenido-) y que ejercen funciones distintas (fuente de energía, funcional o estructural). Dichas variaciones se asocian con mayor grado de malignidad clínica e histológica de los tumores. Todo ello sugirió que los efectos de los lípidos de la dieta podían realizarse, al menos en parte, modificando la composición lipídica de los tumores mamarios y, en consecuencia, alterando el grado de insaturación y la fluidez de membrana, la señalización celular así como el suministro de sustratos energéticos (12).

A partir de estos últimos resultados, el estudio de los mecanismos específicos de la acción moduladora de los lípidos de la dieta en el cáncer de mama se orientó hacia la investigación de posibles efectos sobre la función de genes implicados en vías de señalización celular, centrándose en aquellos genes que participan en procesos de proliferación y diferenciación. Se ha estudiado el efecto sobre la vía de señalización ErbB-Ras y sus principales efectores (ERK1/2, PI3K/Akt, RalGDS/RalA/B) por ser una de las que se encuentran más frecuentemente alteradas en el cáncer de mama. Los resultados mostraron que la dieta rica en PUFA n-6 no provoca cambios significativos en la expresión y/o estado de activación de los componentes de esta vía de proliferación celular, a excepción del aumento de la relación entre el ARNm de *c-erbB1* de 9.5 kb (correspondiente al receptor EGFR funcional de 170 kDa) y el ARNm de 2.7 kb (forma truncada del receptor, sin actividad). En cambio, la dieta de aceite de oliva disminuyó dicha relación, así como los niveles del receptor ErbB4 truncado y, muy especialmente, los niveles de la proteína Ras activa, unida a GTP (13,14,17,25,26). Esta importante disminución de la actividad de la proteína Ras no se acompaña, sin embargo, de disminución en la expresión de la proteína total (27). La dieta de aceite de oliva también se asoció a una regulación a la baja de la vía Ras/PI3K/Akt y a una estimulación de la vía ERK1/2, en comparación con la dieta control. Este último efecto también se observó como consecuencia de la dieta rica en PUFA n-6, sugiriendo que éste podría estar relacionado con una acción inespecífica de las dietas ricas en lípidos. Por otra parte, se comprobó que la disminución de la actividad de Ras por efecto de la dieta de aceite de oliva no es debida a cambios en la tasa de mutación del proto-oncogén *c-Ha-ras1* ni a cambios en la expresión de enzimas clave de la vía del mevalonato, a partir de la cual se originan compuestos que son esenciales para la activación de Ras. La acción moduladora de la dieta de aceite de oliva sobre estas vías de señalización intracelular se asocia a una mayor apoptosis y a un balance proliferación/apoptosis a favor de ésta última. Además, esta dieta se asocia a niveles disminuidos de PCNA monoubicuitinizado, lo cual sugiere un menor nivel de daño en el ADN. Estas acciones fueron claramente diferentes a las de la dieta rica en PUFA n-6, la cual estimuló la proliferación y supervivencia celular. Todo ello está de acuerdo con el fenotipo tumoral más benigno de los tumores de los animales alimentados con la dieta rica en aceite de oliva y con las características de mayor agresividad de los tumores de los animales alimentados con la dieta de aceite de semillas (26, 28).

Dado que la desdiferenciación celular se relaciona con la proliferación celular y que forma parte de los desequilibrios que se producen en el cáncer, los esfuerzos del Equipo Investigador también se destinaron al estudio del estado de diferenciación celular. Uno de los genes estudiados fue el proto-oncogén *PCPH*. Su estudio era, además, particularmente interesante puesto que *PCPH* está relacionado con Ras, uno de los genes anteriormente estudiados. Así, ambos tienen acciones sinérgicas y *PCPH* presenta homología con los factores intercambiadores GDP/GTP. El estudio de *PCPH* en tejidos normales y en el modelo experimental de cáncer de mama demostró una asociación entre su patrón de expresión y el grado de diferenciación celular, así como una disminución de su expresión tumoral por efecto de la dieta rica en PUFA n-6 (29,30). En esta misma línea de investigación, se estudiaron otros genes relacionados típicamente con diferenciación celular. Así se investigó la relación de los lípidos de la dieta con β -actina y con α - y β -caseína. β -actina está relacionada con cáncer y metástasis, puesto que sus niveles aumentan en situaciones de menor

diferenciación celular. Las caseínas constituyen un típico marcador de diferenciación celular en la mama normal. Los resultados mostraron que las dietas hiperlipídicas, independientemente del tipo, aumentan significativamente los niveles de ARNm de β -actina, pero no de su proteína. Este resultado junto con las diferencias detectadas en la expresión de ZBP-1 (uno de los transportadores del ARNm de β -actina) sugieren que los lípidos de la dieta podrían modular el transporte y traducción de dicho ARNm y, en consecuencia, su función. En cuanto a α - y β -caseína, los resultados han mostrado que su expresión desregulada en los tumores mamarios no sería un indicador de los cambios que los lípidos de la dieta inducen en el estado de diferenciación de dichos tumores (17,31).

Con el objetivo de profundizar en el papel modulador de los lípidos de la dieta en la función génica se puso en marcha otro tipo de estrategia experimental distinta, consistente en la realización de un amplio cribaje (en lugar de genes de interés concreto como hasta ese momento) mediante la tecnología de los cDNA microarrays. Este nuevo enfoque permitió identificar nuevos genes diferencialmente expresados en los tumores mamarios por efecto de tales lípidos. La posterior validación de los resultados y el análisis en un amplio número de muestras tumorales demostró que la dieta de aceite de semillas provoca una disminución significativa de los niveles de ARNm de los genes α -2u globulina submaxilar, VDUP1 (vitamin D3-upregulated protein 1), el gen "imprinted" paternalmente H19 (un riboregulador), y una secuencia expresada de función actualmente desconocida (Rn.32385). Estos cambios se asociaron con características clínicas e histopatológicas de mayor malignidad (32). Las evidencias experimentales sugieren que en los tres primeros casos se trata de genes potencialmente implicados en diferenciación y proliferación celular. Sin embargo, la dieta de aceite de oliva no induce cambios en la expresión de los genes anteriores. El estudio de IGF-II, gen reciprocamente improntado con H19, mostró que la dieta rica en PUFA n-6 aumenta la expresión de dicho mitógeno, mientras que la de aceite de oliva la disminuye. Por otra parte, la actividad de tioredoxina, oxidoreductasa inhibida por VDUP-1 que estimula el crecimiento celular e inhibe la apoptosis, tiende a ser menor en los tumores del grupo del aceite de semillas y mayor en los del aceite de oliva. Todo ello sugiere que el efecto diferencial de ambas dietas se efectúa modulando vías de proliferación y diferenciación distintas (17,33,34).

Tal como ya se ha indicado, la influencia de los lípidos de la dieta en el cáncer de mama parece ejercerse fundamentalmente durante la promoción de la carcinogénesis. Sin embargo, algunos trabajos del Equipo Investigador también habían demostrado que las dietas ricas en PUFA n-6 administradas desde etapas previas a la inducción con el carcinógeno influyen en la carcinogénesis mamaria, indicando un efecto durante la etapa de la iniciación (10-14). En cuanto a los mecanismos implicados, se ha investigado el posible papel de los lípidos en la susceptibilidad o resistencia de la glándula mamaria al desarrollo del cáncer debido a sus efectos sobre la diferenciación de la glándula mamaria durante la etapa crítica de la pubertad (24,31). Los resultados han mostrado que la dieta rica en aceite de oliva administrada desde la etapa prepuberal se asocia a una disminución tanto de la incidencia como del contenido tumoral y que los adenocarcinomas son de menor grado de malignidad. Estos efectos diferenciales se producirían, al menos en parte, por una distinta influencia sobre el crecimiento y la maduración sexual. Así, la dieta rica en PUFA n-6 produjo un mayor peso y masa corporales en los animales, un claro avance de la manifestación clínica del inicio de la pubertad, un mayor número de cuerpos lúteos en los ovarios después de la pubertad, y una tendencia a mayores niveles hipotalámicos del ARNm del marcador de pubertad kisspeptina. En cambio, la dieta rica en aceite de oliva virgen, con el mismo contenido lipídico, no modificó el peso o masa corporales, el número de cuerpos lúteos, o los niveles de kisspeptina durante la pubertad, y aunque produjo un avance del inicio de la pubertad en comparación con el grupo control, éste fue menor que el producido por la dieta de aceite de maíz. Sin embargo, ambas dietas hiperlipídicas indujeron pocos cambios morfológicos en la glándula mamaria (incrementaron el número de estructuras diferenciadas sin reducir el de estructuras indiferenciadas en edad postpuberal), sugiriendo que podrían modificar la

diferenciación de la glándula mamaria, y por tanto la susceptibilidad al cáncer de mama, induciendo otros cambios a nivel molecular (24,28,34).

Dentro del estudio de los mecanismos de acción de los lípidos de la dieta en el cáncer de mama a nivel genómico, también se investigaron los efectos inespecíficos relacionados con el aporte energético que suponen. Para ello, y basándose en su influencia, bien establecida en la literatura, en la regulación de la expresión hepática de genes implicados en el metabolismo lipídico, se analizó la expresión de CPT I, HMG-CoA sintasa mitocondrial y PPAR α en los animales del modelo experimental, así como la influencia del cáncer en la regulación de la expresión de estos genes por lípidos de la dieta. Los resultados de la expresión, junto con cambios observados en el perfil lipídico y en el peso y masa corporales, sugieren que el estado canceroso modificaría la regulación normal de la expresión de estos genes por lípidos de la dieta y que cambios en la expresión del ARNm del receptor de los ácidos grasos (PPAR α) podrían contribuir a tales alteraciones. Este efecto estaría relacionado con el grado de agresividad tumoral (35).

Las investigaciones del Grupo también han contemplado un objetivo aplicado de los resultados anteriores, que permitió demostrar que determinados ácidos grasos pueden mejorar la respuesta de las células tumorales mamarias al tratamiento con diversos agentes terapéuticos. Así, se demostró que dichos ácidos grasos, entre ellos el ácido oleico, principal ácido graso del aceite de oliva, aumentan la quimiosensibilidad de las células a los efectos antitumorales de ciertos quimioterápicos, como paclitaxel (Taxol), docetaxel (Taxotere) y vinorelbina (Navelbine). Asimismo, estos ácidos grasos aumentan la eficacia del anticuerpo trastuzumab (Herceptin), útil en el tratamiento de los cánceres de mama que presentan una amplificación del oncogén Her-2/neu (36-38). Además, se han realizado estudios, mediante resonancia magnética nuclear, de caracterización lipídica en plasma de pacientes de cáncer de mama en comparación con controles normales (39).

Globalmente, los resultados obtenidos por el Grupo Investigador indican que el efecto estimulador de las dietas ricas en PUFA n-6 en el cáncer de mama se efectúa, al menos en parte, disminuyendo la diferenciación celular y, probablemente, aumentando el estado de proliferación y la supervivencia celular, mientras que las dietas ricas en aceite de oliva ejercerían un papel protector mediado, al menos en parte, por un balance proliferación/apoptosis a favor de este último proceso. Además, los resultados no excluyen un componente metabólico en cuanto a aporte energético en ambos casos (40-42).

En última instancia, todos estos estudios pretenden aportar nuevos datos a la caracterización de la actividad biológica de estos nutrientes habituales en la alimentación humana, que permitan formular opiniones científicas en relación con la salud de la población y la seguridad de los alimentos. En consecuencia, desde el punto de vista de Salud Pública, los mencionados estudios se enmarcarían en el campo de la prevención secundaria, e incluso primaria, del cáncer de mama. En este último aspecto, miembros del Equipo Investigador han formado parte de comités internacionales de expertos sobre los efectos del aceite de oliva en la salud para la elaboración de documentos de consenso: International Conference on Olive Oil and Health, Jaén (Spain) 2004 (43,44); Internacional Olive Oil Council -IOOC- Scientific Seminal on Olive Oil and Health, Madrid (Spain), 2005 (45); II international Conference on Olive Oil and Health. Consensus report, Jaén and Córdoba (Spain) 2008 (46).

REFERENCIAS:

(en negrita los miembros del Grupo, el resto de autores son colaboradores ocasionales de los trabajos experimentales)

1. **Escrich E.** Mammary Cancer Model Induced By Dimethylbenz(α)Anthracene: A Good Experimental Tool for the Study of Tumour Markers. *Int J Biol Markers* 1987, 2:109-119.
2. **Escrich E.** Validity of the DMBA-Induced Mammary Cancer Model for the Study of Human Breast Cancer (Editorial). *Int J Biol Markers* 1987, 2:197-206.
3. **Escrich E, Solanas M, Segura R.** Experimental Diets for the Study of Lipid Influence on the Induced Mammary Carcinoma in Rats: I- Diet Definition. *Int J In vivo Res* 1994, 8:1099-1106.
4. **Escrich E, Solanas M, Segura R.** Experimental Diets for the Study of Lipid Influence on the Induced Mammary Carcinoma in Rats: II- Suitability of the Diets. *Int J In Vivo Res* 1994, 8:1107-1112.
5. **Escrich E, Ribalta T, Muntané J, Ruiz de Villa MC, Murillo J, Saez S.** Effects of an Androgenic Derivative on Pre-established Mammary Tumours Chemically Induced in the Rat. *J. Cancer Res Clin Oncol* 1991, 117:575-582.
6. **Ruiz de Villa MC, Cabral MSE, Escrich E, Solanas M.** A non Parametric Regression Approach to Repeated Measures Analysis in Cancer Experiments. *J Appl Stat* 1999, 26:601-611.
7. El Halimi R, Ocaña J, **Ruiz de Villa MC, Solanas M, Escrich E.** Modelling Experimental Mammary Adenocarcinoma Growth, using Nonlinear Mixed-Effects Models and S-Plus. *InterStat*, septiembre 2003.
(<http://jscs.stat.vt.edu/interstat/articles/2003/abstracts/0309002.html-ssi>)
8. Gonçalves MH, Salomé Cabral M, **Ruiz de Villa MC, Escrich E, Solanas M.** Likelihood Approach for Count Data in Longitudinal Experiments. *Comput Stat & Data Anal* 2007, 51:6511-6520
(<http://www.sciencedirect.com/>)
9. **Escrich E, Muntané J, Ribalta T, Colom J, Solanas M, Segura R.** Efectos de una Dieta Hiperlipídica sobre la Carcinogénesis Mamaria Experimental: Contenido y Tipo de Tumores. *Neoplasia* 1992, 9:54-56.
10. **Solanas M, Moral R, Escrich E.** Effect of a High-Fat Diet on DMBA-Induced Mammary Carcinogenesis. *Breast J* 1998, 4(suppl 1):s54.
11. **Solanas M, Moral R, Colomer R, Escrich E.** Effects of Dietary (n-6) Polyunsaturated Lipids on Experimental Mammary Carcinogenesis. *J Women's Cancer* 2000, 2:67-72.
12. **Escrich E, Solanas M, Soler M, Ruiz de Villa MC, Sánchez JA, Segura R.** Dietary Polyunsaturated n-6 Lipids Effects on the Growth and Fatty Acid Composition of Rat Mammary Tumors. *J Nutr Biochem* 2001, 12:536-549.
13. **Solanas M, Moral R, Escrich E.** The Stimulating Effect of a High-Fat n-6 Polyunsaturated Diet on Rat DMBA-Induced Mammary Tumors is not Related to Changes in c-Ha-ras1 mRNA Tumor Expression. *Nutr Res* 2001, 21:1261-1273.
14. **Moral R, Solanas M, García G, Colomer R, Escrich E.** Modulation of EGFR and neu Expression by n-6 and n-9 High-Fat Diets in Experimental Mammary Adenocarcinomas. *Oncol Rep* 2003, 10:1417-1424.
15. **Solanas M, Hurtado A, Costa I, Moral R, Menéndez JA, Colomer R, Escrich E.** Effects of a High Olive Oil Diet on the Clinical Behavior and Histopathological Features of Rat DMBA-Induced Mammary Tumors Compared with a High Corn Oil Diet. *Int J Oncol* 2002, 21:745-753.
16. **Escrich E, Ramírez-Tortosa MC, Sánchez-Rovira P, Colomer R, Solanas M, Gaforio JJ.** Olive Oil in the Prevention and the Progression of Cancer. *Nutrition Rev* 2006, 64:40-52.
17. **Escrich E, Solanas M, Moral R.** Olive oil, and Other Dietary Lipids, in Cancer: Experimental Approaches. En "Olive Oil and Health". Editores: J.L. Quiles, M.C. Ramírez-Tortosa, P.Yaqoob. Ed. CABI Publishing, Oxford -UK-, 317-374, 2006. ISBN-10: 1-84593-068-1; ISBN-13: 978-1-84593-068-4.
18. **Costa I, Solanas M, Escrich E.** Histopathologic Characterization of Mammary Neoplastic Lesions Induced with 7,12-Dimethylbenz(α)Anthracene in the Rat. A Comparative Analysis with Human Breast Tumours. *Arch Pathol Lab Med* 2002, 126:915-927.
19. **Costa I, Moral R, Solanas M, Escrich E.** High-fat Corn Oil Diet Promotes the Development of High Histologic Grade Rat DMBA-Induced Mammary Adenocarcinomas, while High Olive Oil Diet does not. *Breast Cancer Res Treat* 2004, 86:225-235.
20. **Costa I, Esquius J, Solanas M, Moral R, Escrich E.** Histopathologic Characteristics of Chemically-Induced Mammary Adenocarcinomas in Rats Fed Diets High in (n-6) Polyunsaturated Lipids. *Virchows Archiv* 2001, 439:310-311.
21. **Costa I, Solanas M, Moral R, García G, Grau L, Esquius J, Bernet M, Serrano A, Escrich E.** Validity of the 7,12-Dimethylbenz(α)anthracene (DMBA)-Mammary Cancer Model Induced in the Rat for the Study of Human Breast Cancer: a Histopathological Perspective. *Histopathology* 2002, 41 (suppl 1):6.
22. **Escrich E.** Hormone-Dependence of Experimental Mammary Tumours. *Rev Esp Fisiol* 1990, 46:89-94.
23. **Escrich E.** Endocrine Aspects of Breast Cancer. En "Senology". Cardoso J. Ed. Monduzzi Editore -Bologna (Italy), 1998, pág. 599-603.
24. **Moral R, Escrich R, Solanas M, Vela E, Costa I, Ruiz de Villa MC, Escrich E.** Diets High in Corn Oil or Extra-virgin Olive Oil Provided from Weaning Advance Sexual Maturation and Differentially Modify Susceptibility to Mammary Carcinogenesis in Female Rats. *Nutr Cancer* 2011, 63:410-420.

25. Solanas M, Escrich E. Ha-ras in Normal and Tumoral Tissues: Structure, Function and Regulation. *J Physiol Biochem* 1996, 52:173-192.
26. Solanas M, Grau L, Moral R, Vela E, Escrich R, Escrich E. Dietary Olive Oil and Corn Oil Differentially Affect Experimental Breast Cancer through Distinct Modulation of the p21ras Signaling and the Proliferation-apoptosis Balance. *Carcinogenesis* 2010, 31:871-879.
27. Costa I, Moral R, Solanas M, Andreu FJ, Ruiz de Villa MC, Escrich E. High Corn Oil and Extra Virgin Olive Oil Diets and Experimental Mammary Carcinogenesis: Clinicopathological and Immunohistochemical p21Ha-Ras Expression Study. *Virchows Archiv* 2011, 458:141-151.
28. Escrich E, Solanas M, Moral R, Escrich R. Modulatory Effects and Molecular Mechanisms of Olive Oil and Other Dietary Lipids in Breast Cancer. *Curr Pharm Des* 2011, 17:813-830.
29. Rouzaut A, Solanas M, Escrich E, Notario V. Alteraciones Frecuentes en la Expresión del Oncogén PCPH en Sistemas Experimentales de Cáncer de Mama. *Senología* 2001, 14: 3-7.
30. Solanas M, Escrich E, Rouzaut A, Costa I, Martínez A, Notario V. Deregulated Expression of the PCPH Proto-Oncogene in Rat Mammary Tumors Induced with 7,12-Dimethylbenz(α) Anthracene. *Mol Carcinog* 2002, 33:219-227.
31. Moral R, Solanas M, García G, Grau L, Vela E, Escrich R, Escrich E. A High Corn Oil Diet and a High Extra Virgin Olive Oil Diet have Different Effects on the Expression of Differentiation Related Genes in Experimental Mammary Tumors. *Oncol Rep* 2008, 20:429-35.
32. Escrich E, Moral R, García G, Costa I, Sánchez JA, Solanas M. Identification of Novel Differentially Expressed Genes by the Effect of a High-fat n-6 Diet in Experimental Breast Cancer. *Mol Carcinog* 2004, 40:73-78.
33. Solanas M, Moral R, García G, Grau L, Vela E, Escrich R, Costa I, Escrich E. Differential Expression of H19 and Vitamin D3 up-regulated Protein 1 in the Modulatory Effects of High Virgin Olive Oil and High Corn Oil Diets on Experimental Mammary Tumors. *Eur J Cancer Prev* 2009, 18:153-161.
34. Escrich E, Moral R, Solanas M. Olive Oil, an Essential Component of the Mediterranean Diet, and Breast Cancer. *Public Health Nutr* 2011, 14:2323-2332.
35. Moral R, Solanas M, Manzanares EM, Haro D, Escrich E. Influence of DMBA-Induced Mammary Cancer on the Liver CPT I, mit HMG-CoA synthase and PPAR α mRNA Expression in Rats fed Low or High Corn Oil Diet. *Int J Mol Med* 2004, 14: 283-287.
36. Colomer R, Montero S, Ropero S, Menéndez JA, Cortés Funes H, Solanas M, Escrich E. El Oncogén HER2 como Ejemplo del Progreso Diagnóstico y Terapéutico del Cáncer de Mama. *Senología* 2001, 14:8-19.
37. Menéndez JA, Barbacid MM, Montero S, Sevilla E, Escrich E, Solanas M, Cortés-Funes H, Colomer R. Effect of Gamma-Linolenic Acid and Oleic Acid on Paclitaxel Citotoxicity in Human Breast Cancer Cells. *Eur J Cancer* 2001, 37:402-413.
38. Menéndez JA, Ropero S, Barbacid MM, Montero S, Solanas M, Escrich E, Cortés-Funes H, Colomer R. Synergistic Interaction Between Vinorelbine and Gamma-Linolenic Acid in Breast Cancer Cells. *Breast Cancer Res Treat* 2002, 72:199-215.
39. Moreno A, Escrich E, Prats M, Benito N, Alonso J, Arús C. Proton Nuclear Magnetic Resonance of Human Plasma Detects a Significant Variation between Controls and Breast Cancer Patients. *Oncology* 1993, 50:110-115.
40. Escrich E, Solanas M, Moral R, Costa I, Grau L. Are the Olive Oil and Other Dietary Lipids Related to Cancer? Experimental evidence. *Clin Transl Oncol* 2006, 8:868-83.
41. Escrich E, Moral R, Grau L, Costa I, Solanas M. Molecular Mechanisms of the Effects of Olive Oil and Other Dietary Lipids on Cancer. *Mol Nut Food Res* 2007, 51:1279-1292.
42. Escrich E, Solanas M, Moral R, Grau L, Costa I, Vela E, Escrich R. Lípidos de la Dieta y Cáncer de mama: Evidencias Científicas Clínicas, Anatomopatológicas y Moleculares. *Rev Esp Obes* 2008, 6:129-138.
43. Alvarez de Cienfuegos G, (Spain), Badimon L (Spain), Barja G (Spain), Battino M (Italy), Blanco A (Spain), Bonanome A (Italy), Colomer R (Spain), Corella-Piquer D (Spain), Covas I (Spain), Chamorro-Quiros J (Spain), Escrich E (Spain), Gaforio JJ (Spain), Garcia Luna PP (Spain), Hidalgo L (Spain), Kafatos A (Greece), Kris-Etherton PM (USA), Lairon D (France), Lamuela-Raventos R (Spain), Lopez-Miranda J (Spain), Lopez-Segura F (Spain), Martinez-Gonzalez MA (Spain), Mata P (Spain), Mataix J (Spain), Ordovas J (USA), Osada J (Spain), Pacheco-Reyes R (Spain), Perez-Jimenez F (Spain), Perucho M (USA), Pineda-Priego M (Spain), Quiles JL (Spain), Ramirez-Tortosa MC (Spain), Ruiz-Gutierrez V (Spain), Sanchez-Rovira P (Spain), Solfrizzi V (Italy), Soriguer-Escofet F (Spain), de la Torre-Fornell R (Spain), Trichopoulos A (Greece), Villalba-Montoro JM (Spain), Villar-Ortiz JR (Spain), Visioli F (Italy). International Conference on the Healthy Effect of Virgin Olive Oil. Consensus report, Jaén (Spain) 2004. *Eur J Clin Invest* 2005, 35:421-424.
44. Álvarez de Cienfuegos G (España), Badimón L (España), Barja G (España), Battino M (Italia), Blanco A (España), Bonanome A (Italia), Colomer R (España), Corella-Piquer D (España), Covas I (España), Chamorro-Quirós J (España), Escrich E (España), Gaforio JJ (España), García Luna PP (España), Hidalgo-Ardanz L (España), Kafatos A (Grecia), Kris-Etherton PM (USA), Lairon D (Francia), Lamuela-Raventós R (España), López-Miranda J (España), López-Segura F (España), Martínez-González MA (España), Mata P (España), Mataix J (España), Ordovas J (USA), Osada J (España), Pacheco-Reyes R (España), Perucho M (USA), Pineda-Priego M (España), Quiles JL (España), Ramírez-Tortosa MC (España), Ruiz-Gutiérrez V (España), Sánchez-Rovira P (España), Solfrizzi V (Italia), Soriguer-

- Escofet F (España), de la Torre-Fornell R (España), Trichopoulos A (Grecia), Villalba-Montoro JM (España), Villar-Ortiz JR (España), Visioli F (Italia).
- Declaración de Jaén 2004: Documento de Consenso de la Conferencia Internacional sobre los Efectos Saludables del Aceite de Oliva Virgen. *Rev Esp Obes* 2005, 3:212-217.
45. Capurso A (Italy), Casimiro-Soriguer M (Spain), Clandinin MT (Canada), Colomer R (Spain), Corella D (Spain), Covas-Planells MI (Spain), **Escrich E** (Spain), Galli C (Italy), Gasull MA (Spain), Giacosa A (Italy), Lopez-Farré A (Spain), López-Miranda J (Spain), Mancini M (Italy), Mata P (Spain), Mataix J (Spain), Ordovas JM (USA), Perez-Jimenez F (Spain), Sanchez-Muñiz F (Spain), Sanchez-Villegas A (Spain), Servili M (Italy), **Solanas M** (Spain), Trichopoulou A (Greece), Wahle K (UK).
- State of the Art in Olive Oil, Nutrition and Health: Consensus Statement (International Olive Oil Council -IOOC-). IOCC Scientific Seminar on Olive Oil and Health, 2005.
46. López-Miranda J (Spain), Pérez-Jiménez F (Spain), Ros E (Spain), De Caterina R (Italy), Badimón L (Spain), Covas I (Spain), **Escrich E** (Spain), Ordovás JM (USA), Soriguer F (Spain), Abiá R (Spain), Alarcón C (Spain), Battino M (Italy), D Corella (Spain), J Chamorro-Quirós (Spain), J Delgado-Lista (Spain), D Giugliano (Italy), K Esposito (Italy), Estruch R (Spain), Fernandez-Real JM (Spain), Gaforio JJ (Spain), La Vecchia C (Italy), Lairon D (France), López-Segura F (Spain), Mata P (Spain), Menéndez JA (Spain), Muriana FJ (Spain), Osada J (Spain), Panagiotakos DB (Greece), Paniagua JA (Spain), Pérez-Martinez P (Spain), Peinado MA (Spain), Pineda-Priego M (Spain), Poulsen H (Denmark), Quiles JL (Spain), Ramírez-Tortosa MC (Spain), Ruano J (Spain), Serra-Majem L (Spain), Solá R (Spain), **Solanas M** (Spain), Solfrizzi V (Italy), de la Torre-Fornell R (Spain), Trichopoulou A (Greece), Uceda M (Spain), Villalba-Montoro JM (Spain), Villar-Ortiz JR (Spain), Visioli F (France), Yiannakouris N (Greece).
- Olive Oil and Health: Summary Of The Ii International Conference On Olive Oil And Health. Consensus Report, Jaén and Córdoba (Spain) 2008. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2010, 20:284-294.