

JOURNAL FÜR MENOPAUSE

KLOOSTERBOER HJ

*Die Rolle der Sulfatasehemmung und andere Wirkungen von Tibolon
auf die Brust*

*Journal für Menopause 2003; 10 (Sonderheft 3) (Ausgabe für
Österreich), 2-8*

Homepage:

www.kup.at/menopause

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

ZEITSCHRIFT FÜR DIAGNOSTISCHE, THERAPEUTISCHE UND PROPHYLAKTISCHE ASPEKTE IM KLIMAKTERIUM

Erschaffen Sie sich Ihre ertragreiche grüne Oase in Ihrem Zuhause oder in Ihrer Praxis

Mehr als nur eine Dekoration:

- Sie wollen das Besondere?
- Sie möchten Ihre eigenen Salate, Kräuter und auch Ihr Gemüse ernten?
- Frisch, reif, ungespritzt und voller Geschmack?
- Ohne Vorkenntnisse und ganz ohne grünen Daumen?

Dann sind Sie hier richtig



DIE ROLLE DER SULFATASEHEMMUNG UND ANDERE WIRKUNGEN VON TIBOLON AUF DIE BRUST

The Role of Sulphatase Inhibition and Other Effects of Tibolone on the Breast

Summary:

Hormone treatment with an estrogen plus a progestagen increases the risk of breast cancer. Both hormone activities reside also in tibolone. In order to assess the breast safety of tibolone the compound was evaluated in various preclinical models. In breast cancer cell lines the effects of tibolone were inconclusive, but in various in vivo models it did not stimulate the breast. In the DMBA model tibolone clearly inhibited the growth of breast tumors and when tibolone is given in a prophylactic design far less tumors develop. Ovariectomized monkeys treated for two years with tibolone show no increase in the expression of the proliferation marker Ki67. Several investigations were performed in order to unravel the mode of action of tibolone in breast tissue. The effects of tibolone and its metabolites on the various steroid metabolizing enzymes in breast tissues were therefore investigated. Tibolone or its metabolites did not inhibit the enzyme aromatase, but sulfatase was profoundly inhibited. The sulfated

3 α -OH tibolone metabolite showed even irreversible inhibition of the sulfatase enzyme. In addition, it was found that the enzyme 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase activity was also slightly inhibited and sulfotransferase activity was stimulated at low concentrations. The consequence of the effects of tibolone on these enzymes is that for both the endogenous estrogens and the estrogenic metabolites of tibolone the equilibrium is preferentially at the site of the sulfated forms. Besides this effect on the intracellular hormonal milieu tibolone and its metabolites also influence cellular homeostasis. It inhibits cell proliferation of normal breast epithelial cells and stimulates apoptosis. In this respect, tibolone behaves differently to estrogens. Clinical studies have shown that tibolone users experience less breast tenderness and do not show an increase in mammographic density as found with continuous combined estrogen plus progestagen preparations. The data about tibolone and breast cancer risk are inconclusive and require further investigation.

wohl aber die Sulfatase entscheidend inhibieren konnten. Der sulfatierte 3 α -OH-Tibolon-Metabolit zeigte sogar eine irreversible Unterdrückung des Enzyms Sulfatase. Zusätzlich wurde noch die Aktivität des Enzyms 17 β -Hydroxysteroiddehydrogenase leicht inhibiert und die Sulfotransferase-Aktivität bei geringen Konzentrationen stimuliert. Die Wirkung von Tibolon auf diese Enzyme hat zur Folge, daß sowohl für die endogenen Estrogene als auch für die estrogen wirksamen Metaboliten von Tibolon das Gleichgewicht vorzugsweise auf der Seite der sulfatierten Formen liegt. Neben dieser Wirkung auf das intrazelluläre hormonelle Milieu beeinflussen Tibolon und seine Metaboliten auch die zelluläre Homöostase. Tibolon unterdrückt die Zellproliferation von normalen Brustepithelzellen und stimuliert die Apoptose. In dieser Hinsicht zeigt Tibolon somit ein anderes Verhalten als Estrogene. Klinische Studien haben gezeigt, daß Tibolon-Anwenderinnen weniger Brustspannen und auch keine Zunahme der mammographischen Brustdichte wie bei kontinuierlicher Estrogen/Progestagen-Kombinationstherapie aufweisen. Die Daten über Tibolon in Bezug auf das Brustkrebsrisiko sind nicht konklusiv, weitere Untersuchungen daher erforderlich.

ZUSAMMENFASSUNG

Eine Hormontherapie mit Estrogen und Progestagen erhöht das Risiko für Brustkrebs. Beide hormonellen Wirkungen sind auch im Wirkstoff Tibolon vorhanden. Um die Sicherheit von Tibolon in Bezug auf die Brust zu bewerten, wurde der Wirkstoff im Rahmen verschiedener präklinischer Tests untersucht. In Brustkrebs-Zelllinien waren die Ergebnisse nicht konklusiv, allerdings kam es in verschiedenen *In-vivo*-Modellen zu keiner Stimulation der Brust. Im DMBA-Modell zeigte Tibolon eine eindeutig unterdrücken-

de Wirkung auf das Wachstum von Brusttumoren; im prophylaktischen Modell kommt es zu wesentlich geringerem Tumorwachstum. Bei ovariectomierten Affen, die während zwei Jahren mit Tibolon behandelt wurden, zeigte sich keine erhöhte Expression des Proliferationsmarkers Ki67. Um die tatsächliche Wirkungsweise von Tibolon auf das Brustgewebe zu erhellen, wurden verschiedene Untersuchungen durchgeführt. Aus diesem Grund wurde die Wirkung von Tibolon und seinen Metaboliten auf die verschiedenen steroidmetabolisierenden Enzyme im Brustgewebe untersucht. Dabei zeigte sich, daß Tibolon und seine Metaboliten die Aromatase nicht hemmen,

EINLEITUNG

Mit seinen unterschiedlichen hormonellen Aktivitäten wurde Tibolon zu einer interessanten Substanz für die Behandlung der Osteoporose, weil man davon ausging, daß die estrogenen, androgenen und progestagenen Aktivitäten sich vorteilhaft auf die Knochen auswirken. Erste klinische Studien mit Tibolon zeigten tatsächlich eine positive Wirkung auf die Knochen bei postmenopausalen Frauen; sie zeigten aber auch, daß die Substanz gegen Hitzewallungen eingesetzt werden konnte und daß das Endometrium nicht stimuliert

wird [1]. In zahlreichen klinischen Studien konnte dies inzwischen bestätigt werden [2–4]. Diese Beobachtungen lassen sich gut durch die Metabolisierung von Tibolon in zwei 3-OH-Metaboliten mit estrogenen Wirkung und einen Delta-4-Metaboliten mit gestagener und androgener Wirkung erklären [5]. Die lokale Bildung des Delta-4-Metaboliten liefert auch eine weitere Erklärung für die Endometriomatrophie bei den meisten Frauen.

Die pharmakokinetischen Studien mit Tibolon und seinen Metaboliten zeigen allerdings, daß sowohl Tibolon als auch sein Delta-4-Metabolit nur kurze Zeit in der Zirkulation verbleiben und die beiden 3-OH-Metaboliten die wichtigsten freien Metaboliten darstellen. Im allgemeinen reicht eine derart kurze Zeit nicht aus, um der estrogenen Exposition entgegenzuwirken. Es scheint, daß zusätzliche zugrundeliegende Mechanismen, die sich einschränkend auf die estrogenen Stimulation des Endometriums auswirken, aktiv sind.

Die Wirkungen von Tibolon auf die Brust blieben längere Zeit ungeklärt. Nach einiger Zeit zeigte sich, daß Frauen unter Tibolon im Vergleich zu jenen Frauen, die mit einer konventionellen kombinierten Hormonersatztherapie (HRT) behandelt wurden,

weniger oft unter Brustschmerzen litten und keine Zunahme der Brustdichte aufwiesen. Den Wirkungsmechanismus von Tibolon auf die Brust kann man nur verstehen, wenn man den Stoffwechsel von Tibolon und die Rezeptoraktivierung sowie die Kinetik von Tibolon und seinen Metaboliten kennt.

METABOLISMUS VON TIBOLON UND REZEPTORAKTIVIERUNG SOWIE KINETIK VON TIBOLON UND SEINEN METABOLITEN

Tibolon selbst hat an sich nicht die typischen Eigenschaften zur Bindung an den Estradiolrezeptor und ist daher für die estrogenen Wirkungen auf Knochen, Gehirn und Vagina nicht verantwortlich. Tibolon muß im Körper der Frau erst metabolisiert werden, bevor es diese Wirkungen ausüben kann.

Metabolismus und Kinetik

Nach oraler Verabreichung wird Tibolon sehr rasch mittels hepatischer und intestinaler 3 α - und 3 β -Hydroxysteroiddehydrogenase (HSD) (Abb. 1) zu 3 α - und 3 β -

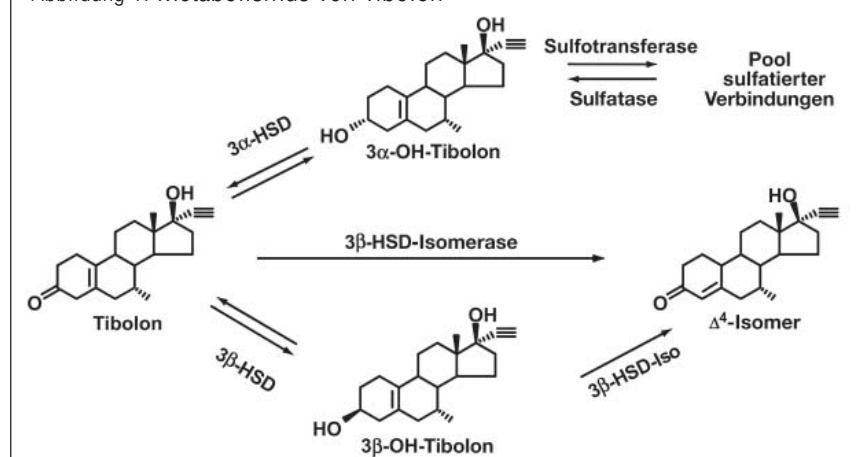
Hydroxy-Tibolon metabolisiert. Beide OH-Metaboliten haben eine Halbwertszeit von ca. 7 Stunden, allerdings findet man in der Zirkulation etwa die vierfache Menge an 3 α -Hydroxy-Metaboliten als an 3 β -Metaboliten (Abb. 2) [6]. Diese beiden Metaboliten sind für die estrogenen Aktivität von Tibolon verantwortlich. Durch die Aktivität der 3 β -HSD-Isomerase wird ein dritter Metabolit, das Delta-4-Isomer, direkt aus Tibolon gebildet, für die auch der 3 β -Hydroxy-Metabolit ein potentielles Substrat darstellt. In diesem Zusammenhang darf nicht übersehen werden, daß die enzymatischen Umwandlungen zwischen Tibolon und den OH-Metaboliten reversibel sind, allerdings ist dies nicht mehr der Fall, wenn die Doppelbindung zwischen den Kohlenstoffatomen 4 und 5 vorliegt. Wie auch bei seinem Vorläufer wird das Delta-4-Isomer rasch aus der Blutzirkulation entfernt (Abb. 2), und die Eliminationshalbwertszeit kann nicht ermittelt werden. Mit Hilfe modernster Analysemethoden wurde die Präsenz der Substanzen nur während 6 Stunden beobachtet.

Die Metaboliten von Tibolon liegen vorwiegend (zu ca. 80 %) in der inaktiven mono- und disulfatierten Form vor. Da der 3 α -OH-Metabolit der bedeutendste aktive Metabolit in der Zirkulation ist, ist es nicht erstaunlich, daß auch vorwiegend die Sulfate dieses Metaboliten in der Zirkulation festgestellt werden. Überraschenderweise kommt aber auch das Disulfat in höheren Konzentrationen vor, woraus zu folgern ist, daß die Ethinylgruppe an der Position 17 kein Hindernis für die Sulfatierung der 17-Hydroxyl-Gruppe bedeutet.

Rezeptoraktivierung

De Gooyer et al. [7] untersuchten die Bindung und die Transaktivierung von Tibolon und seinen Metaboliten auf die verschiedenen Steroidrezeptoren und prüften außerdem, ob bei

Abbildung 1: Metabolismus von Tibolon



Verwendung eines antagonistischen Modells eine Antihormonaktivität zu beobachten sei.

In Rahmen von Transaktivierungsstudien, die mit Humanestrogen-Rezeptor-enthaltenden Zellen und einem Promotor-Reporter-Konstrukt durchgeführt wurden, zeigen sich die beiden 3-Hydroxy-Metaboliten als volle Agonisten am humanen Estradiolrezeptor. Die relative Bindungsaffinität und Transaktivierungsaktivität (für beide Untersuchungen: Estradiol = 100 %) stimmen überein. Obwohl die 3-Hydroxy-Metaboliten schwächere Agonisten als Estradiol sind, kann eine volle Estrogenreaktion aufgrund der großen Mengen in der Blutzirkulation erreicht werden. Dies zeigt wiederum, daß das Potential einer Substanz für einen spezifischen Rezeptor nicht mit seiner biologischen Aktivität zusammenhängt. Ein Vergleich der Wirkung von 1 mg Estradiol mit der Wirkung von 2,5 mg Tibolon auf den Knochen postmenopausaler Frauen läßt diesen Schluß eindeutig zu [8].

Die 3-Hydroxy-Metaboliten von Tibolon weisen eine Selektivität für den klassischen Estrogen- α -Rezeptor gegenüber der β -Isoform auf. Obwohl es keine Hydroxyl-Gruppe und keinen aromatischen A-Ring besitzt, hat Tibolon selbst eine leicht aktivierende Wirkung auf den Estradiolrezeptor. Dies zeigt sich insbesondere bei langer Cytosol-Inkubation von MCF-7-Zellen [7]. Es konnte aufgezeigt werden, daß MCF-7-Zellen metabolisierende Enzyme aufweisen, die eine Umwandlung von Tibolon in 3 β -OH-Tibolon bewirken.

Vom Delta-4-Isomer werden die Progesteron- und Androgenrezeptoren aktiviert, die Estrogenrezeptoren jedoch nicht [7]. Das Delta-4-Isomer besitzt eine höhere Affinität für den Progesteronrezeptor Typ B als für jenen vom Typ A. Die relative Fähigkeit von Tibolon zur Transaktivierung ist in Wirklichkeit höher als man aufgrund der Untersuchungen be-

züglich Bindung erwarten würde. Die Metabolisierung zum Delta-4-Metaboliten könnte die wahrscheinlichste Erklärung dafür bieten. Tibolon und seine Metaboliten besitzen keine Affinität für die Glukokortikoid- bzw. Mineralkortikoid-Rezeptoren. Für keinen der Steroidrezeptoren weisen Tibolon und seine Metaboliten eine antihormonelle Aktivität auf.

PRÄKLINISCHE *IN-VIVO*-STUDIEN MIT TIBOLON

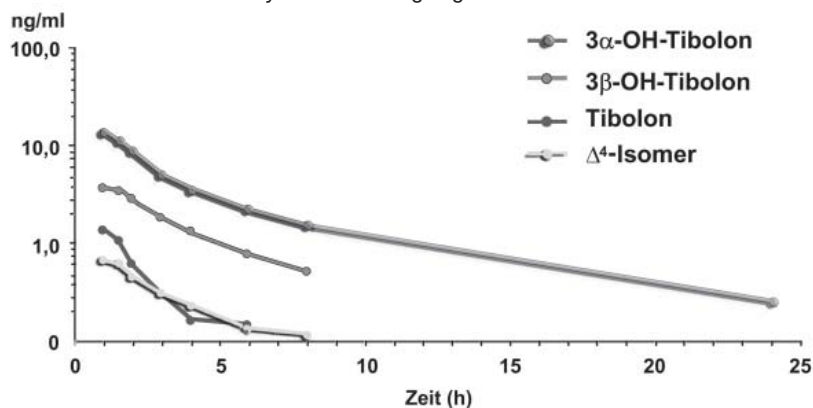
Aus den Studien zu den kinetischen Daten und den Rezeptoren zeigt sich, daß das jeweilige Gewebe hauptsächlich der estrogenen Aktivität ausgesetzt ist. Diese Aktivität hat eine vorteilhafte Wirkung in der Behandlung klimakterischer Beschwerden und in der Vorbeugung des Verlustes an Knochenmasse, es kann aber zu einer ungewollten Stimulation des Endometriums und der Brust kommen. Wir untersuchten aus diesem Grund die Sicherheit von Tibolon bezüglich des Brustgewebes. Zu diesem Zweck verwendeten man Brustkrebszelllinien [9]. Es fragt sich allerdings, ob Krebszelllinien gute Modelle für eine derartige Evaluierung darstellen, da diese Zellen möglicherweise ganz unter-

schiedliche Eigenschaften im Vergleich zur normalen Brustzelle aufweisen. Brustkrebszelllinien unterschiedlicher Herkunft können sogar bei Behandlung mit Tibolon unterschiedliche Wachstumseigenschaften haben, während sie auf die Behandlung mit Estradiol vergleichbar reagieren [10]. Darüber hinaus wird sich bei einer *In-vitro*-Untersuchung die Exposition der Zellen gegenüber dem Metabolitenmuster sicher von derjenigen einer *In-vivo*-Untersuchung unterscheiden.

De Gooyers Dissertation zeigte, daß in Zelllinien der hauptsächliche estrogene Metabolit (3 α -OH-Metabolit) nicht gebildet wird; auch konnte er keine sulfatierten Metaboliten feststellen. Wir wählten daher geeignete *In-vivo*-Modelle aus.

Zur Prüfung der Wirkung von Tibolon bei der Behandlung und prophylaktischen Verabreichung auf Tumorstadium und -entstehung bei Ratten wurde das anerkannte Modell mit 7,12-Dimethylbenz(a)anthracen (DMBA) eingesetzt. Dabei konnte beobachtet werden, daß Tibolon das Tumorstadium zumindest ebenso wirksam unterdrückt wie Tamoxifen (Abb. 3) [10]. Im prophylaktischen Einsatz konnte Tibolon extrem wirksam der Entwicklung eines Tumors vorbeugen. Dies war eine übera-

Abbildung 2: Änderungen der Plasmakonzentration von Tibolon und seinen Metaboliten unter steady-state-Bedingungen



schende Beobachtung, weil Tibolon im wesentlichen zu estrogenen Metaboliten konvertiert wird. Bei ovariectomierten Affen kam es nach einer zweijährigen Behandlung mit Tibolon zu keiner Stimulation der Brust, während bei Tieren, die mit einem Kombinationspräparat aus equinen konjugierten Estrogenen (CEE) plus MPA behandelt worden waren, eine deutliche Stimulation zu beobachten war. Der Tibolon-Stoffwechsel war bei diesen Affen durchaus mit dem von postmenopausalen Frauen vergleichbar.

Gemäß den Ergebnissen von Untersuchungen der Wirkung auf estrogen-sensitive Parameter [11] wird auch bei Nacktmäusen das Brustgewebe mit Tibolon nicht stimuliert. Im gleichen Modell kam es bei MCF-7-Zellen auch zu keiner Stimulation unter Tibolon [12].

Nachfolgend werden mögliche Erklärungen diskutiert, weshalb Tibolon die Brust in diesen Modellen nicht stimuliert. Es bleibt aber noch offen, ob diese Erklärungen den nichtstimulierenden Effekt von Tibolon bei postmenopausalen Frauen belegen können.

WIRKUNGSMECHANISMUS VON TIBOLON AUF DIE BRUST

Es gibt eine Reihe möglicher Mechanismen, mit deren Hilfe Tibolon den estrogenen Eigenschaften entgegenwirken und somit eine tumorunterdrückende Wirkung auf die Brust auslösen könnte. In Rezeptorstudien konnte anhand von antagonistischen Transaktivierungsuntersuchungen die Möglichkeit eines antagonistischen Effekts von Tibolon bzw. eines seiner Metaboliten für irgendeinen der Steroidrezeptoren ausgeschlossen werden [7].

Darüber hinaus zeigte sich, daß die hemmende Wirkung von Tibolon auf

das Tumorstadium im DMBA-Modell nichtsensitiv auf Flutamid war, wodurch man folgern kann, daß es sich nicht um einen androgenen Effekt handelte [13]. In der Folge wird der Effekt auf das intrakrine Milieu und die zelluläre Homöostase genauer erläutert.

Intrakrinologie der Brust

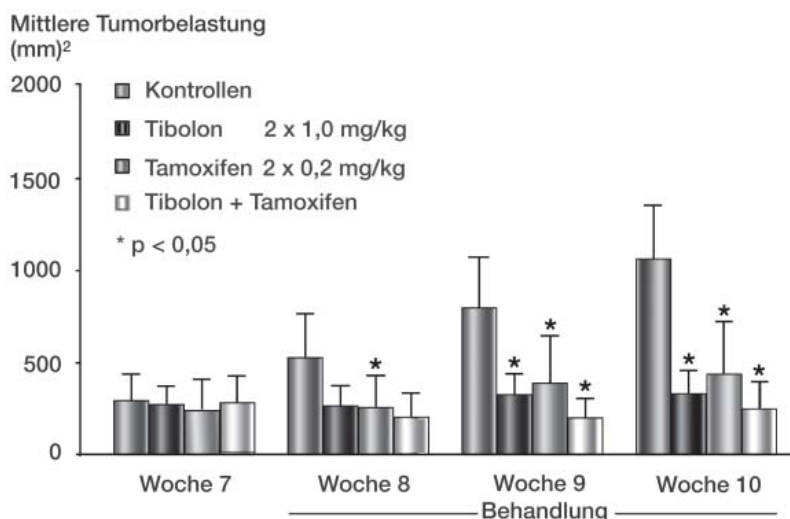
Unter Intrakrinologie versteht man einen physiologischen Prozeß, bei dem Hormone in jenem Gewebe hergestellt werden, in dem sie die Rezeptoren aktivieren und in der Folge eine biologische Reaktion zeigen. Dazu können auch parakrine Wirkungen im Gewebe zählen. So zeigt sich z. B., daß in einem normalen Brustgewebe keine Estrogenrezeptoren in sich teilenden Brustzellen vorhanden sind [Clark, persönl. Mitteilung].

Das Brustgewebe enthält steroidmetabolisierende Enzyme zur Bildung eigener Estrogene aus Androgenen, die in den Nebennieren produziert werden. Das Enzym Aromatase bildet irreversibel Estron aus Androstendion. Im normalen Brustgewebe kann das Enzym 17 β -HSD (Typ I)

Estron in das wesentlich potentere Estrogen Estradiol umwandeln. Hierbei kann das Isoenzym 17 β -HSD (Typ II) das Estradiol in Estron zurückverwandeln. Dieses Enzym unterliegt der Kontrolle der Progesterone durch die Regulierung seiner *De-novo*-Synthese.

Im normalen Brustgewebe ist das Enzym Sulfotransferase enthalten, das eine extrem hohe Affinität für Estron aufweist. Diese befindet sich im nM-Bereich, ähnlich wie die Affinität für den Estradiolrezeptor. Das sulfatierte Estron kann durch das Enzym Sulfatase dekonjugiert werden. Die Estron-Sulfotransferase (EST, SULT 1E1 oder STE-Gen) gehört zur Superfamilie der Steroid-Sulfotransferasen, jede mit ihrer eigenen Substratspezifität. Es gibt nur ein Gen für die Sulfatase. Die hohen Estronsulfat-Konzentrationen im Brustgewebe bei postmenopausalen Frauen sind ein Indiz dafür, daß das Sulfatase-Sulfotransferase-System bei der Regulierung der Menge an freien Estrogenen eine wichtige Rolle spielt. Bei Brustkrebstumoren werden ca. 8- bis 10fach höhere Estradiolspiegel festgestellt. Ein Brustkrebstumor kann Estronsulfotransferase und Sulfatase [14] enthalten, obwohl – ge-

Abbildung 3: Effekt von Tibolon und/oder Tamoxifen auf DMBA-induziertes Tumorstadium



nau wie beim Estradiolrezeptor – die Enzyme nicht in allen Tumoren vorzufinden sind. Das Enzym Estron-Sulfatase befindet sich in größerer Menge in ER-positiven Krebszelllinien als in ER-negativen Krebszelllinien; es konnte jedoch nicht gezeigt werden, ob Estrogene für die Regulierung der Estron-Sulfatase-Synthese verantwortlich sind. Die Menge des Enzyms Estron-Sulfotransferase wird im Endometrium von Progestagenen reguliert, es ist jedoch nicht erwiesen, ob dies auch für die Brust zutrifft.

In einer Reihe von Studien wurde untersucht, ob Tibolon und seine Metaboliten in der Lage sind, die verschiedenen in der Brust vorhandenen steroidmetabolisierenden Enzyme zu unterdrücken. De Gooyer et al. [15] untersuchten, ob Tibolon und seine Metaboliten in der Lage sind, das isolierte Enzym Aromatase zu hemmen. Weder Tibolon noch seine Metaboliten schienen mit dem Substrat zu konkurrieren. Bei Inkubation hoher Konzentrationen von Tibolon oder seinen Metaboliten während mehrerer Stunden konnten auch bei Verwendung einer sehr empfindlichen Rezeptoren-Untersuchungsmethode keine Zeichen einer Aromatisierung festgestellt werden.

Die Forschergruppe um Pasqualini [16] zeigte, daß Progestagene in der Lage sind, die Umwandlung von Estronsulfat in Estradiol in Brustkrebszellen zu unterdrücken. Auch wenn diese Zelllinien kein gutes Instrument zur Untersuchung der Brustgewebesicherheit von Tibolon dar-

stellen, können sie doch zur Untersuchung der Wirkung auf die Enzyme herangezogen werden.

Studien mit T47D- und MCF-7-Zellen zeigten, daß Tibolon und seine Metaboliten die Umwandlung von Estronsulfat in Estradiol stark unterdrücken [17]. Von mehreren Forschergruppen konnte die Hemmung der Sulfataseaktivität bestätigt werden. De Gooyer et al. [18] entdeckten, daß auch die sulfatierten Metaboliten des 3 α -OH-Metaboliten gute Inhibitoren sind, und Purohit et al. [19] konnten den Nachweis erbringen, daß die Affinität der sulfatierten Metaboliten für die Enzyme bei Verwendung von Mikrosomen von T47D-Zellen sehr stark war. Die Umwandlung von Estronsulfat in Estradiol erfolgt mit Hilfe zweier Enzyme: Sulfatase (die aus Estronsulfat Estron bildet) und 17 β -HSD Typ I (die Estradiol aus Estron bildet). Die Unterdrückung der Estradiolbildung aus Estronsulfat durch Tibolon erfolgt vielmehr über die Unterdrückung der Sulfatase als über die Unterdrückung der 17 β -HSD Typ I. Darüber hinaus wird die Bildung von Estronsulfat aus Estron durch die Sulfotransferase mit Tibolon in niedrigen Konzentrationen stimuliert [20, 21]. Gompel [22] zeigte, daß das Enzym 17 β -HSD (Typ II) in den Zellen des normalen menschlichen Brustepithels durch Tibolon und den Delta-4-Metaboliten induziert werden kann. Demnach läßt sich die fehlende Stimulation von Tibolon und seinen Metaboliten auf die Brust zumindest teilweise durch seine Wirkungen auf die Enzymregulierung und die nachfolgende Estrogensynthese erklären. Die Induktion der 17 β -HSD (Typ II) und die Stimulation der Sulfotransferase drängt Estradiol in die Richtung des inaktiven Estronsulfats. Die beiden estrogenen 3-OH-Tibolon-Metaboliten werden auch sulfatiert. Durch die kombinierte Wirkung auf die Sulfotransferase (Stimulation) und die Sulfatase (Hemmung) liegt das Gleichgewicht zwischen freien und konjugierten Metaboliten auf der Seite der

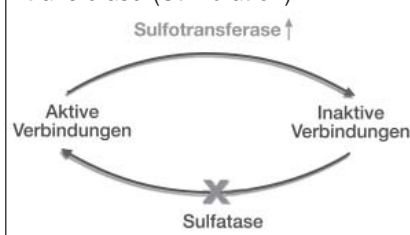
inaktiven Verbindungen (Abb. 4). Um den endgültigen Nachweis zu erbringen, ist es wichtig, den Spiegel des endogenen Estrogens im Brustgewebe von Tibolon-Anwenderinnen zu evaluieren.

Ein erster Hinweis dafür, daß das Sulfatase-Sulfotransferase-System von Tibolon reguliert wird, kam von einer Studie unter der Leitung von Desreux [12]. Desreux et al. fanden heraus, daß die Menge an Estronsulfat in Nacktmäusen mit einem Estron-Implantat und einer Tibolon-Behandlung 6mal höher war als bei Mäusen, denen nur das Estron-Implantat eingesetzt wurde. Bei postmenopausalen Frauen zeigen Tibolon-Anwenderinnen höhere Konzentrationen an zirkulierendem DHEAS. Dies läßt auf eine Wirkung auf das Sulfatase-Sulfotransferase-System schließen.

Welche Sulfotransferase-Isoenzyme beteiligt sind, geht aus diesen Studien nicht klar hervor; aus der Studie unter der Leitung von Doeren [23] kann man jedoch mit sehr großer Wahrscheinlichkeit darauf schließen, daß neben der Estron-Sulfotransferase (SULT 1E1) auch die DHEA-Sulfotransferase (SULT 2A1) beteiligt ist.

Die Unterdrückung der Sulfatase trägt zu den fehlenden estrogenen Wirkungen von Tibolon auf das Brustgewebe bei, andererseits ist es jedoch erwiesen, daß Tibolon im Knochen eine estrogenische Wirkung entfaltet. Es stellt sich daher die Frage, inwiefern diese gewebe selektiven Wirkungen trotz eines einzigen Gens für Sulfatase entstehen. In *In-vitro*-Studien konnte gezeigt werden, daß die Sulfatase der Brust von Tibolon und seinen Metaboliten stark unterdrückt wird, während im Knochen die Sulfatase nicht gehemmt wird (Abb. 5). Aus dem oben Gesagten geht außerdem eindeutig hervor, daß Tibolon einen einzigartigen Wirkmechanismus auf die Brust besitzt, der sich eindeutig von demjenigen der SERMs unterscheidet, die die dreidimensionale Struktur des Estradi-

Abbildung 4: Regulation der Sulfatase (Hemmung) und der Sulfotransferase (Stimulation)



diolrezeptors verändern. Die 3-OH-Metaboliten zeigen eine starke agonistische Wirkung auf den Estradiolrezeptor, während die SERMs nur partielle Agonisten sind. Der gewebebeselektive Weg der Regulation der Rezeptorliganden ist eine einzigartige Fähigkeit von Tibolon und ergibt ein ideales klinisches Profil für postmenopausale Frauen, indem dort stimuliert wird, wo es nötig ist, und in anderen Geweben keine unerwünschten Wirkungen auftreten. Substanzen mit solchen Eigenschaften bezeichnet man auch als STEAR (Selective Tissue Estrogenic Activity Regulator). Zusätzlich zu seiner Wirkung auf das intrakrine System in der Brust übt Tibolon möglicherweise auch eine Wirkung auf die zelluläre Homöostase aus.

Zelluläre Homöostase

Zusammen mit der Apoptose, dem programmierten Zelltod, müssen die Zellproliferation und die Zelldifferenzierung in der normalen Brust während der einzelnen Phasen im Leben der Frau sehr gut geregelt werden. All diese Vorgänge müssen in einem Gleichgewicht, der sogenannten zellulären Homöostase, ablaufen. In der zellulären Homöostase spielen die Hormone eine wichtige regulierende Rolle. Ein Ungleichgewicht kann zu einer Krankheit führen. Bei der Behandlung klimakterischer Beschwerden von postmenopausalen Frauen mit Estrogenen mit oder ohne Progestagen bzw. mit Tibolon sollte es zu keiner Veränderung der zellulären Homöostase kommen.

Der Nachteil der Verwendung von Brustkrebszelllinien wurde bereits dargelegt und deshalb wird die Verwendung von normalen humanen Brustzellen bevorzugt, auch wenn alle diese Zellen keine Zell-Zell-Interaktionen mit Stromazellen aufweisen.

Gompel et al. [22] zeigten in ihren Studien, daß Tibolon, der Delta-4-Metabolit und die beiden 3-OH-Tibolon-Metaboliten die Proliferation

der normalen humanen Epithelzellen bei 10^{-7} M unterdrücken. Darüber hinaus erhöhen Tibolon und seine Metaboliten sowie auch das Progestagen Org 2058 und das Androgen Dihydrotestosteron den Anteil der Zellen, die apoptotische Eigenschaften, wie z. B. *Blebbing*, DNA-Fragmentierung und Zellkernzerstörung, aufweisen. Der 3 β -OH-Metabolit zeigte erst bei einer 10mal höheren Dosis eine Wirkung. Die Senkung der Bcl-2- und die leichte Senkung der Bcl-xl-Expression untermauern eine Wirkung von Tibolon und dem Delta-4-Metaboliten auf die Apoptose, jedoch wurden diese Parameter nicht durch die beiden 3-OH-Metaboliten beeinflusst, was darauf schließen läßt, daß ein anderer Vorgang im Spiel ist.

Überraschenderweise zeigten Desreux et al. [24], daß das Progestin Nomegestrolacetat bei Untersuchungen mittels TUNEL-Test oder Caspase-3-Analyse keine Wirkung auf die Apoptose in normalen Zellen der menschlichen Brust zeigte, daß die Apoptose

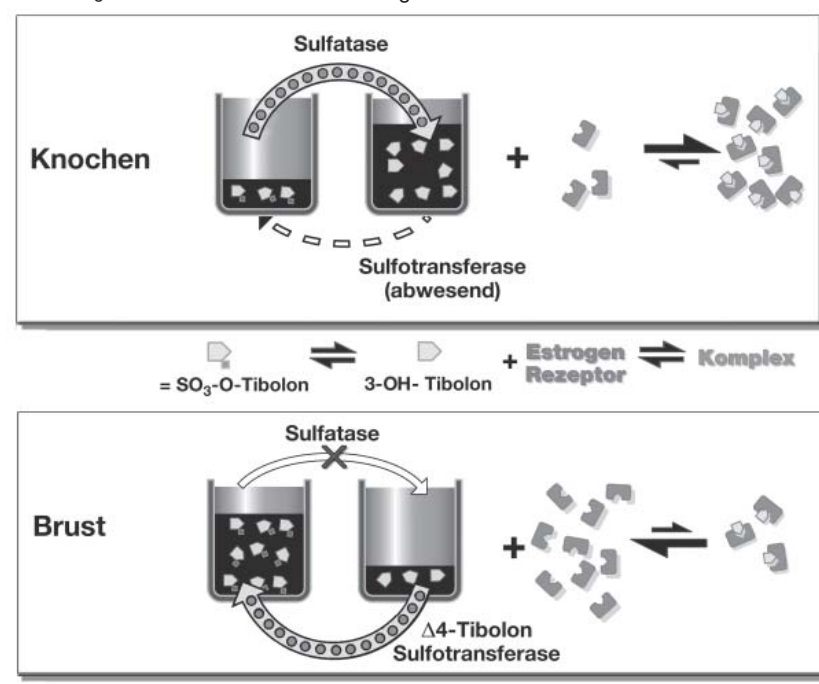
jedoch nach Absetzen von Progestin induziert wurde. In Brustkrebszellen bzw. in abnormalem Brustgewebe kam es nicht zu diesem Vorgang.

Bei ovariectomierten Affen zeigte sich, daß Tibolon den Proliferationsmarker Ki67 in der Brust [25] nicht erhöhte, während dieser Parameter bei der Gabe von CEE plus MPA erhöht war.

Valdivia et al. beobachteten bei Gewebeproben von postmenopausalen Frauen sogar eine signifikante Senkung des Markers Ki67 und gleichzeitig eine Zunahme der Apoptose [26].

Eine Zunahme der mammographischen Dichte, wie dies bei kombinierter Hormontherapie der Fall ist, wird als Bildung von neuem Gewebe angesehen. Die bei Tibolon-Anwenderinnen unveränderte mammographische Dichte ist ein möglicher Hinweis darauf, daß die zelluläre Homöostase nicht gestört wird.

Abbildung 5: Gewebeselektive Wirkung von Tibolon



Helenius Jan Kloosterboer, PhD

Wissenschaftlicher Werdegang: Biochemie und klinische Chemie an der Universität Groningen. Promotion (PhD) 1978 mit einer Arbeit über die Regulation von Kreatinkinase im Skelettmuskel von Ratten während der Entwicklung. Abteilung für Pädiatrie, Labor für Entwicklung und Biochemie/Universität Groningen, Niederlande.

Zahlreiche Publikationen auf den Gebieten der Biochemie, Endokrinologie, Pharmakologie und der Entwicklung neuer Pharmaka. Derzeit Projektmanager – MoA Tibolon.

Korrespondenzadresse:

H. J. Kloosterboer
N.V. Organon (KA5020)
5340 BH Oss, PO Box 20
The Netherlands
E-mail: ienus.kloosterboer@organon.com



SCHLUSSFOLGERUNG

Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß Tibolon in präklinischen *In-vivo*-Modellen das Brustgewebe nicht stimuliert. Dies läßt sich am besten durch eine Wirkung auf steroid-metabolisierende Enzyme erklären, wodurch die estrogen Exposition eingeschränkt wird, sowie durch eine Wirkung auf die zelluläre Homöostase.

In klinischen Studien konnte festgestellt werden, daß unter Tibolon keine vermehrten Brustschmerzen auftreten und es nicht zu einer Zunahme der mammographischen Dichte kommt. Die Daten über das Risiko für Brustkrebs sind nicht konklusiv und bedürfen weiterer Untersuchungen im Rahmen von randomisierten, kontrollierten Studien. Die Haupt-eigenschaft von Tibolon ist die gewebespezifische Regulierung der Estrogen-aktivität, die Substanz kann somit als STEAR (Selective Tissue Estrogenic Activity Regulator) angesehen werden (Abb. 5).

Literatur:

1. Lindsay R, MacKhart D, Kraszewski A, Coope J. Prospective double-blind trial of synthetic steroid (org OD 14) for preventing postmenopausal osteoporosis. *BMJ* 1980; 280: 1207–9.
2. Modelska K, Cummings S. Tibolone for postmenopausal women: systematic review of randomized trials. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 16–23.
3. Albertazzi P, Di Micco R, Zanardi E. Tibolone: a review. *Maturitas* 1998; 30: 295–305.
4. Moore RA. Livial: a review of clinical studies. *Br J Obstet Gynaecol* 1999; 106 (Suppl 19): 1–21.
5. Kloosterboer HJ. Tibolone: a steroid with a tissue-specific mode of action. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2001; 76: 231–8.
6. Timmer CJ, Houwing NS. Dose proportionality of three different doses of tibolone. *Pharmacother* 2002; 22: 6–13.
7. Gooyer M de, Deckers GH, Schoonen WGEJ, Verheul HAM, Kloosterboer HJ. Receptor profiling and endocrine interactions of tibolone. *Steroids* 2003; 68: 21–30.
8. Kloosterboer HJ, Ederveen AG. Tibolone – its tissue specificity and bone-preserving effects. *J Menopause* 2002; 9 (1): 16–9.
9. Mueck AO, Lippert C, Seeger H, Wallwiener D. Effects of tibolone on human breast cancer cells and human vascular coronary cells. *Arch Gynecol Obstet* 2003; 267: 139–44.
10. Kloosterboer HJ, Schoonen WG, Deckers G, Klijn JG. Effects of progestogens and Org OD14 in vitro and in vivo tumour models. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1994; 49: 311–8.
11. Dobson R, Chan K, Knox WF, Potten C, Kloosterboer HL, Bundred NJ. Tibolone does not stimulate epithelial proliferation in the breast. *Breast Cancer Res Treat* 2001; 69: 292.
12. Desreux J, Kloosterboer HJ, Noël A, Franckenne F, Lemaire M, Foidart JM. Effects of tibolone (Org OD14) on steroid sulfatase activity and growth of MCF-7 human breast tumors implanted in ovariectomized nude mice. *Int J Gynecol Cancer* 2003; 13 (Suppl 1): 31.
13. Deckers G, Verheul HA, Aalst G, van Cremers E, de Gooyer ME, Kloosterboer HJ. Tibolone and 5-alpha-dihydrotestosterone alone or in combination with an anti-androgen in a rat breast tumour model. *Eur J Cancer* 2002; 38: 443–8.
14. 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: 2762–70.
15. Gooyer ME de, Oppers-Tiëmssen HM, Leysen D, Verheul HAM, Kloosterboer HJ. Tibolone is not converted by human aromatase to 7alpha-methyl-17alpha-ethynylestradiol (7alpha-MEE); analyses with sensitive bioassays for estrogens and androgens and LC-MS/MS. *Steroids* 2003; 68: 235–43.
16. Pasqualini JR, Chetrite G, Blacker C et al. Concentration of estrone, estradiol, estrone sulfate and evaluation of sulfatase and aromatase activities in pre- and postmenopausal breast cancer patients. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 1460–4.
17. Chetrite G, Kloosterboer HJ, Pasqualini JR. Effect of tibolone (Org OD14) and its metabolites on estrone sulphatase activity in MCF-7 and T-47D mammary cancer cells. *Anticancer Res* 1997; 17: 135–40.
18. de Gooyer ME, Kleyn GT, Smits KC, Ederveen AG, Verheul HA, Kloosterboer HJ. Tibolone: a compound with tissue specific inhibitory effects on sulfatase. *Mol Cell Endocrinol* 2001; 183: 55–62.
19. Purohit A, Malini B, Hooymans C, Newman SP. Inhibition of oestrone sulphatase activity by tibolone and its metabolites. *Horm Metab Res* 2002; 34: 1–6.
20. Chetrite GS, Kloosterboer HJ, Philippe JC, Pasqualini JR. Effects of Org OD14 (Livial) and its metabolites on 17 beta-hydroxysteroid dehydrogenase activity in hormone-dependent MCF-7 and T-47D breast cancer cells. *Anticancer Res* 1999; 19: 261–7.
21. Chetrite GS, Kloosterboer HJ, Philippe JC, Pasqualini JR. Effect of Org OD14 (LIVIAL) and its metabolites on human estrogen sulphotransferase activity in the hormone-dependent MCF-7 and T-47D, and the hormone-independent MDA-MB-231, breast cancer cell lines. *Anticancer Res* 1999; 19: 269–75.
22. Gompel A, Chaouat M, Jacob D, Perrot J-Y, Kloosterboer HJ, Rostene W. In vitro studies of tibolone in breast cells. *Fertil Steril* 2002; 78: 351–9.
23. Doeren M, Ruebig A, Coelingh Bennink HJT, Holzgreve W. Differential effects on the androgen status of postmenopausal women treated with 'tibolone' and continuous combined estradiol and norethindrone acetate replacement therapy. *Fertil Steril* 2001; 75: 554–9.
24. Desreux J, Van den Brulle F, Noel A, Delansone R, Foidart J-M. The effects of progesterone on breast tissue. *J Menopause* 2001; 8: 14–8.
25. Cline JM, Register TC, Clarkson TB. Effects of tibolone and hormone replacement therapy on the breast of cynomolgus monkeys. *Menopause* 2002; 9: 422–9.
26. Valdivia I, Campodónico I, Tapia A, Olivares M, Espinoza A. Effect of two different continuous combined HRT regimes, tibolone 2.5 mg or CEE 0.625 mg + MPA 5 mg, on mammographic density and histological breast markers in postmenopausal women. *Climacteric* 2002; 5: 50.

Mitteilungen aus der Redaktion

Besuchen Sie unsere Rubrik

☒ Medizintechnik-Produkte



Neues CRT-D Implantat
Intica 7 HF-T QP von Biotronik



Artis pheno
Siemens Healthcare Diagnostics GmbH



Philips Azurion:
Innovative Bildgebungslösung

Aspirator 3
Labotect GmbH



InControl 1050
Labotect GmbH

e-Journal-Abo

Beziehen Sie die elektronischen Ausgaben dieser Zeitschrift hier.

Die Lieferung umfasst 4–5 Ausgaben pro Jahr zzgl. allfälliger Sonderhefte.

Unsere e-Journale stehen als PDF-Datei zur Verfügung und sind auf den meisten der marktüblichen e-Book-Readern, Tablets sowie auf iPad funktionsfähig.

☒ Bestellung e-Journal-Abo

Haftungsausschluss

Die in unseren Webseiten publizierten Informationen richten sich **ausschließlich an geprüfte und autorisierte medizinische Berufsgruppen** und entbinden nicht von der ärztlichen Sorgfaltspflicht sowie von einer ausführlichen Patientenaufklärung über therapeutische Optionen und deren Wirkungen bzw. Nebenwirkungen. Die entsprechenden Angaben werden von den Autoren mit der größten Sorgfalt recherchiert und zusammengestellt. Die angegebenen Dosierungen sind im Einzelfall anhand der Fachinformationen zu überprüfen. Weder die Autoren, noch die tragenden Gesellschaften noch der Verlag übernehmen irgendwelche Haftungsansprüche.

Bitte beachten Sie auch diese Seiten:

Impressum

Disclaimers & Copyright

Datenschutzerklärung