

Concepto de ATE: Acción tejido específica

* Santiago Palacios G.; Director del Instituto Palacios, Madrid - España.

RESUMEN

El descubrimiento de la tibolona se debió a la búsqueda de una alternativa a la terapia hormonal substitutiva (THS) clásica, de una substancia que ofreciendo a la mujer postmenopáusica los beneficios de esta terapia no produjese los riesgos y principales efectos colaterales que pueden asociarse a dicho tratamiento. Con este espíritu se diseñó la tibolona u Org OD 14, un esteroide estructuralmente relacionado con derivados de la 19-nortestosterona como el noretinodrel y la noretisterona que tiene una triple actividad hormonal estrogénica, androgénica y progestagénica. El efecto hormonal que produce este esteroide depende del tejido en el que actúe, es decir en unos tejidos actuará como un estrógeno y producirá efectos agonistas estrogénicos, y en otros actuará como un progestágeno o como un andrógeno y producirá los correspondientes efectos hormonales. Su perfil de actuación resultará pues de la suma de sus distintos efectos hormonales en los diferentes órganos y tejidos en los que actúa. Es por esto por lo que se dice que la tibolona es una molécula de acción tejido específica.

Palabras clave: Tibolona, HRT, Acción Tejido Específica, ATE.

Summary

Tibolone was discovered while looking for an alternative to classic HRT, as a compound that could offer postmenopausal women all the benefits of HRT without its clinical inconveniences and side effects. With that idea in mind Tibolone (Org OD-14) was created. It is an steroid compound, structurally related to 19-NET derivatives norethinodrel and norethisterone. Tibolone has triple hormonal activity, estrogenic, progestational and androgenic. Its hormonal actions depend on the target tissue, acting as an estrogen agonist in some tissues and androgenic or progestagenic on some others, with the corresponding hormonal effects. The acting profile of Tibolone will then be the resultant of the sum of the different hormonal effects on the various target tissues and organs on which it acts. That is why Tibolone is being said to be a "Specific Tissue Acting" molecule.

Key Words: Tibolone, HRT, Specific tissue acting molecule, STA.

Especificidad tisular de la tibolona

1. Datos experimentales y clínicos

Los experimentos realizados en animales para evaluar la actividad hormonal de la tibolona indican que esta substancia tiene in vivo una triple débil acción estrogénica, progestagénica y androgénica. Utilizando el test de Allen-Doisy, que determina la actividad estrogénica de una substancia en el epitelio vaginal de la rata, se ha observado que Org OD 14 posee una débil acción estrogénica a este nivel, del orden de un 10% con respecto a la del etinilestradiol. Así mismo, y mediante el test de transformación del endometrio del conejo se ha observado que la tibolona tiene actividad progestagénica a este nivel, y que esta actividad es menor que la de la noretisterona, ya su potencia es de aproximadamente una octava parte de la de esta última. Adicionalmente y utilizando el test de Herschberger se ha observado que la tibolona en ratas machos castrados tiene actividad androgénica, y que esta actividad es unas veinte veces inferior a la de la metiltestosterona².

En cuanto a los efectos hormonales de la tibolona a nivel óseo los experimentos realizados en ratas ovariectomizadas indican que inhibe la resorción ósea y mantiene la masa ósea dentro de límites normales de forma similar a como lo hace el etinilestradiol. Este efecto parece deberse a que exhibe en el hueso una actividad estrogénica, ya que puede ser bloqueada por antagonistas estrogénicos pero no por antagonistas antiprogestagénicos o antiandrogénicos. Además,

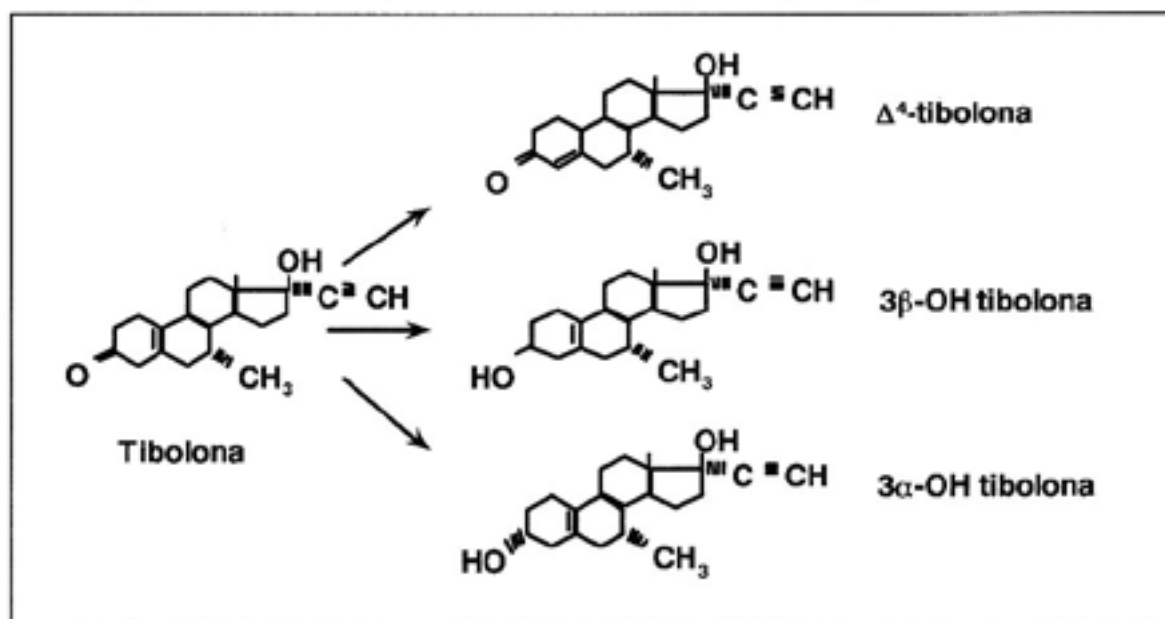
se ha observado que la tibolona mejora la calidad del hueso de forma similar a como lo hace el etinilestradiol, lo que de nuevo indica que su efecto en este tejido es similar al de los estrógenos³.

A nivel endometrial, por el contrario, la tibolona no parece tener una acción estrogénica, ya que diversos estudios realizados en animales^{1,4} han demostrado que este esteroide, a diferencia del etinilestradiol, no estimula la proliferación del tejido endometrial. Así mismo, y aunque se ha observado una cierta actividad en el epitelio uterino de las ratas tratadas con Org OD 14, menor que la producida por el etinilestradiol, no se ha observado patología endometrial entre dichas ratas y sí entre las que se les daba etinilestradiol⁴.

Los datos clínicos indican que el perfil de actuación de la tibolona produce efectos que pueden ser de gran beneficio para la mujer postmenopáusica (Tabla 1):

- * Efectos sobre la sintomatología vasomotora. La tibolona se comporta como un estrógeno en cuanto a la sintomatología vasomotora de la mujer menopáusica, mejorándola y siendo, a dosis de 2.5 mg/día, tan efectiva como los estrógenos y más efectiva que el placebo en el tratamiento de dichos síntomas⁵.
- * Efectos sobre la sintomatología psicológica. Org OD 14 es capaz de estimular la producción de opiáceos endógenos, y específicamente la producción de

Figura 1. Estructura química de la tibolona y de sus principales metabolitos



b-endorfinas⁶⁻⁷. Este aumento de opioides endógenos producido por su acción central no sólo mejorará el humor, sino también el sueño y la ansiedad. Sin embargo, no está claro si éste es un efecto independiente de este esteroide, o si en realidad se debe a su efecto dominó, es decir a la sensación de bienestar que produce el alivio de la sintomatología vasomotora y que repercutirá positivamente en la percepción de los otros síntomas^{5,8}.

Tabla 1. Efectos benéficos de la tibolona en la mujer postmenopáusica

- Mejoría de la sintomatología vasomotora
- Mejoría del humor, sueño, ansiedad y humor depresivo
- Mejoría de la libido
- Mejoría de la atrofia vaginal
- No estimula la proliferación endometrial.
- Baja frecuencia de sangrados vaginales
- Previene la pérdida de hueso
- Efectos beneficiosos sobre factores de riesgo cardiovascular
- Baja incidencia de mastalgia
- No aumenta la densidad radiológica del parénquima mamario

Efecto sobre la libido. La menopausia se acompaña en algunos casos de una disminución del deseo sexual, de la frecuencia de las relaciones sexuales, y de la capacidad de disfrutar con las mismas. En estos casos la tibolona producirá un efecto francamente positivo sobre la libido debido a su efecto androgénico⁹.

* Efectos sobre la vagina. Org OD 14 parece tener un efecto estrogénico significativo sobre el trofismo vaginal y el moco cervical. Según los resultados de un ensayo clínico controlado con placebo la administración de 2.5 mg/día de tibolona durante 2 años produce una mejoría significativa del índice cariopictórico, y del índice de maduración vaginal. También se observó en ese estudio que en el grupo tratado con este compuesto se producía una mejoría subjetiva de la sensación de sequedad vaginal y de la dispareunia¹⁰.

* Efectos sobre el hueso. También a nivel del hueso la tibolona parece tener un efecto estrogénico, ya que además de haberse observado en mujeres con menopausia reciente que la administración diaria de Org OD 14 a dosis de 1.5 y 2.5 mg durante 2 años

produce un aumento significativo de la densidad mineral ósea (DMO) del hueso trabecular y cortical¹¹, y que este esteroide parece ser tan efectivo como la THS clásica en la prevención de la osteoporosis postmenopáusica^{12,14}, la tibolona a dosis de 2.5 mg/día parece aumentar gradualmente, y a diferencia del placebo, la DMO a nivel de la columna lumbar y de la cabeza femoral en mujeres con osteoporosis postmenopáusica¹⁵.

* Efectos sobre el aparato cardiovascular. La tibolona no parece tener un efecto típicamente estrogénico sobre el perfil lipídico ya que se ha observado que disminuye los niveles plasmáticos de HDL-colesterol^{16,18}, no modifica los niveles séricos de colesterol total, ni de LDL-colesterol^{17,18}, y disminuye¹⁶ o no modifica¹⁷ los de los triglicéridos. Sin embargo, y respecto a la lipoproteína (a), sí que se comportaría como un estrógeno, ya que se han observado reducciones de sus niveles plasmáticos durante el tratamiento, entre un 26 y un 36%^{17,18}, incluso mayores que con el estradiol oral. Datos similares se han obtenido en un ensayo clínico recientemente publicado¹⁹, según el cual la tibolona se diferenciaría de la THS en cuanto a su efecto sobre el perfil lipídico en que disminuye la concentración plasmática de HDL colesterol, de apolipoproteína AI y de los triglicéridos.

En cuanto a la seguridad del tratamiento con este esteroide desde el punto de vista cardiovascular hay que recordar que la tibolona no parece afectar al sistema de la coagulación, ni al tiempo de protombina, ni al de hemorragia, y parece aumentar los niveles de antitrombina III, y de plasminógeno, y la actividad fibrinolítica, y parece disminuir los niveles de fibrinógeno^{16,20}. Por otro lado, no parece modificar la tensión arterial, ni la frecuencia cardiaca, y parece aumentar el gasto cardiaco y mejorar la relajación del ventrículo izquierdo, lo que ayudaría a prevenir o al menos a retrasar la insuficiencia cardíaca²¹.

* Efecto sobre la mama. Una de las principales limitaciones de la THS clásica es el posible aumento del riesgo de cáncer de mama que parece asociarse al uso prolongado de estrógenos^{22,23}. En este sentido, y aunque hay pocos estudios disponibles que hayan examinado directamente la relación entre el uso de tibolona y el cáncer de mama en la mujer postmenopáusica, este tratamiento no parece aumentar el riesgo de cáncer de mama en mujeres con/sin antecedentes de patología mamaria²⁴.

Por otro lado, hay que recordar que la sintomatología mamaria es un efecto adverso frecuente de la THS que puede afectar al cumplimiento. Sin embargo, la tibolona parece producir una baja incidencia de síntomas mamarios, y por

tanto una baja tasa de abandonos por esta causa^{24,25}. Así mismo, y al comparar los efectos de Org OD 14 con los de la THS clásica se ha observado una menor incidencia de síntomas mamarios entre las usuarias de la tibolona que entre las usuarias de la THS convencional^{26,27}. Adicionalmente se ha observado que la tibolona, a diferencia de la THS clásica, no produce cambios en la densidad radiológica del parénquima mamario, lo cual respetaría la sensibilidad de la mamografía para detectar precozmente signos de cáncer mamario^{25,28}. En conclusión, todos estos datos parecen indicar que la tibolona no estimula al tejido mamario.

* Efecto sobre el tejido endometrial. La tibolona a nivel endometrial parece tener un efecto antiestrogénico, mediado por su actividad progestagénica, inhibiendo la proliferación endometrial. En los estudios realizados no se han observado cambios proliferativos en este tejido en el 90-96% de las mujeres que seguían este tratamiento²⁹⁻³¹, lo cual se asemeja a los porcentajes de atrofia endometrial generalmente observados en las mujeres sin tratamiento. Incluso se han descrito regresiones de hiperplasia endometrial aparecidas durante el tratamiento con THS³¹. Por otro lado, los sangrados vaginales son menos frecuentes con este tratamiento, y en comparación con la THS³², lo que repercutiría favorablemente en el cumplimiento.

En resumen, la tibolona parece producir la actividad hormonal que se precisa en cada órgano diana para obtener el correcto tratamiento de la sintomatología climatérica y la prevención de los efectos a largo plazo de la menopausia, sin producir los problemas derivados de las acciones hormonales no deseadas y mostrando una buena seguridad a nivel endometrial, mamario y cardiovascular.

2. Mecanismos sugeridos para la actividad tisular específica de la tibolona

Al intentar entender cómo la tibolona ejerce una actividad tisular específica hay que recordar en primer lugar que la acción tisular de las hormonas esteroideas se debe no sólo a su unión al receptor esteroideo y a las propiedades intrínsecas de la sustancia en cuestión para actuar de una forma u otra, sino también a la intervención de otros factores que van a regular la respuesta celular como son la afinidad de la sustancia por el receptor, la distribución y concentración de los distintos receptores esteroideos en los distintos tejidos, los cofactores, correpresores y los factores de transcripción específicos de cada tejido, y que también se deben en parte al metabolismo de dicha sustancia³³.

Puede decirse por tanto que la especificidad tisular de Org OD 14 va a depender fundamentalmente de la interacción de dos mecanismos fisiológicos principales, uno bioquímico, el metabolismo de la tibolona, y el otro genético, a través de su unión con el receptor esteroideo (Figura 2). Sin embargo, es posible que en cada tejido predomine un mecanismo. Por ejemplo el metabolismo parece jugar un papel de gran importancia en la especificidad de acción de la tibolona en el endometrio, mientras que en otros tejidos como en el hueso, en el que ejerce una acción fundamentalmente estrogénica, lo haría casi exclusivamente a través de la activación del receptor estrogénico³³.

La tibolona tras su administración oral se metaboliza en el organismo en tres moléculas esteroideas diferentes, los metabolitos 3a-OH y 3b-OH, y el isómero L4 (Figura 1), que presentarán, al menos en teoría, una distinta especificidad y afinidad de unión al receptor esteroideo. Por lo tanto la acción de Org OD 14 dependerá no sólo de la interacción de

Figura 2. Conversión específica de la tibolona en Δ^4 -tibolona en el endometrio (34).

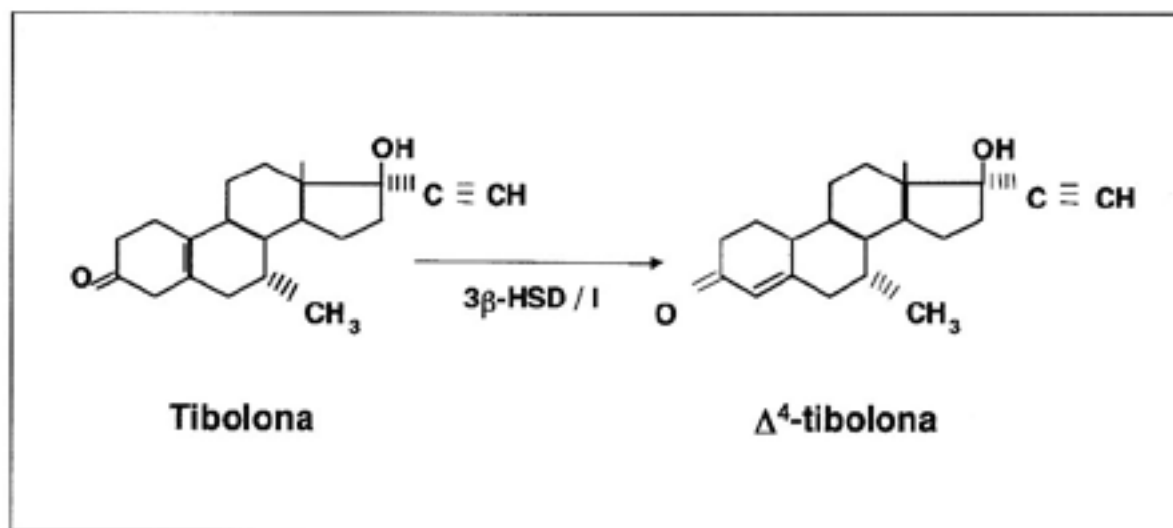


Tabla 2. Afinidad específica de unión de la tibolona y sus metabolitos por los receptores esteroideos (35).

	Receptor estrogénico	Receptor progesterona	Receptor androgénico
Tibolona	+	+	+
3 α /3 β -OH-tibolona	+	-	-
Isómero- Δ^4	-	+	+

la propia molécula de tibolona con el receptor, y de los otros factores anteriormente mencionados, sino también de la interacción de cada uno de estos metabolitos con el/los receptores a los que se unan. Y lo que es más importante, ya que la tibolona puede ser también metabolizada a nivel del órgano diana, su acción en cada tejido dependerá en gran parte del metabolismo local y/o del metabolito predominante en ese tejido. Es decir, a nivel tisular se producirá un metabolismo específico que dará lugar a una respuesta tisular específica que determinará a su vez una respuesta clínica específica. A continuación vamos a describir lo que se sabe sobre los mecanismos de especificidad de acción tisular a nivel endometrial y a nivel del tejido mamario, que son los más estudiados hasta el momento.

En el tejido endometrial la respuesta tisular específica se producirá a través de la combinación de un metabolismo local específico de la tibolona junto a sus propiedades intrínsecas de unión al receptor esteroideo.

Tang y colaboradores en un experimento realizado con células endometriales humanas³⁴ identificaron al enzima 3 β -hidroxiesteroide dehidrogenasa/isomerasa (3 β -HSD/II) como la proteína que convierte local y específicamente la tibolona en el isómero L4 (Figura 2), metabolito que tiene una mayor potencia progestagénica y menor potencia estrogénica que Org OD 14. Este enzima, a través de la conversión local, tejido específica, de Org OD 14 sería en parte responsable de que los efectos estrogénicos de la tibolona y de sus hidroximetabolitos en el endometrio sean mínimos, ya que son contrarrestados por la actividad progestagénica del metabolito predominante en este tejido, el isómero L4.

Adicionalmente contamos con los resultados del estudio in vitro realizado por Markiewicz y Gurskide³⁵, utilizando cultivos de células endometriales humanas, para conocer la actividad hormonal o potencia de la tibolona y sus metabolitos en comparación con los efectos del estradiol y de la progesterona. Según se observó en este experimento los metabolitos 3 α -OH y 3 β -OH de la tibolona tienen un efecto similar al estradiol sobre las células endometriales secretoras, que están bajo la influencia de la progesterona, mientras que la tibolona y el isómero L4 antagonizan los efectos de los estró-

genos sobre dicho endometrio de una forma similar a como lo hace la progesterona. También en el caso de un endometrio proliferativo, y por tanto bajo la influencia del estímulo estrogénico, la tibolona y su isómero L4 mostrarán una actividad similar a la de la progesterona, mientras que los metabolitos 3 α -OH y 3 β -OH no tienen ningún efecto.

Por otro lado estos mismos autores³⁵ observaron que la afinidad de la tibolona y de su isómero L4 por los receptores esteroideos del tejido endometrial no parecía concordar del todo con la actividad hormonal previamente observada, ya que la tibolona presentaba una débil afinidad de unión al receptor estrogénico, al progestagénico y al androgénico, mientras que el isómero L4 no tiene ninguna afinidad por el receptor estrogénico y su afinidad de unión por los receptores progestagénicos y androgénicos es mayor que la de la propia tibolona (Tabla 2).

Tabla 2. Afinidad específica de unión de la tibolona y sus metabolitos por los receptores esteroideos (35).

En cuanto al efecto de la tibolona sobre el tejido mamario, es lógico preguntarse cómo actúa en este tejido y si tiene alguna actividad estrogénica que pudiese aumentar el riesgo de cáncer de mama. Antes de intentar responder a estas preguntas es conveniente recordar los mecanismos que se han sugerido para explicar el posible papel de los estrógenos en el desarrollo del carcinoma mamario. Se ha propuesto que el estradiol estimularía la proliferación de las células mamarias al estimular la expresión de protooncogenes y factores de crecimiento³⁶⁻³⁸. Así mismo también se ha observado que el estradiol estimularía la expresión de protooncogenes como el c-myc tanto en células mamarias sanas³⁹ como en células mamarias cancerosas⁴⁰⁻⁴², lo que sugiere que una estimulación "anormal" de la proliferación celular podría ser uno de los múltiples pasos a través de los cuales una célula normal se convierte en cancerosa. Otro posible mecanismo sería que el estradiol interferiría con la homeostasis celular, es decir con la diferenciación celular normal y con la apoptosis, actuando como promotor del cáncer de mama.

Ante estos resultados los autores sugirieron lo que posteriormente, y como se ha visto anteriormente, se confirmó³⁴,

que las acciones estrogénicas y progestagénicas observadas de la tibolona y de sus metabolitos podrían estar influidas por el metabolismo intracelular del tejido endometrial. Es decir, que la tibolona y el isómero L4 presentan una actividad progestagénica similar pero una muy distinta afinidad relativa de unión por el receptor progestagénico a nivel endometrial podría deberse a que en el endometrio el isómero L4 fuese el mayoritario gracias a una transformación local de la tibolona en este metabolito.

Sin embargo, los resultados de los estudios de Gompel y colaboradores^{43,44} con cultivos de células humanas sanas de epitelio mamario (HEM) y con líneas celulares de cáncer mamario hormonodependiente indican que tanto la tibolona como el isómero L4 disminuyen la tasa de proliferación y estimulan la diferenciación de las células sanas, y que por lo tanto se comportan en ese tejido como progestágenos. Adicionalmente los metabolitos 3a-OH y 3b-OH no parecen tener ninguna actividad estrogénica sobre las células mamarias sanas, y muestran al igual que la tibolona y el isómero L4 una actividad proapoptótica sobre estas células. Por otro lado y según lo observado por Kloosterboer y colaboradores^{45,46} en modelos tumorales in vivo e in vitro la tibolona no tiene o, si acaso, tiene una muy débil actividad estrogénica (menor de un 1% con respecto a la del estradiol) estimulando el crecimiento de líneas celulares de tumores mamarios hormonodependientes (T47D y MCF-7). Esos autores⁴⁶ también observaron que la tibolona no sólo tenía un efecto terapéutico, inhibiendo de forma dosis dependiente el crecimiento de tumores inducidos experimentalmente en ratas, sino que administrada a la vez que el inductor tumoral retrasaba y suprimía el desarrollo tumoral. Por lo tanto la tibolona y sus meta-

bolitos, y aunque pudiesen tener cierta actividad estrogénica sobre las líneas celulares tumorales, no parecen promover el crecimiento de los tumores preexistentes y parecen tener un efecto inhibitorio del desarrollo tumoral muy potente. Efectos que podrían explicarse por la actividad progestagénica y/o androgénica de la tibolona y el isómero L4.

Adicionalmente la tibolona y sus principales metabolitos parecen inhibir las enzimas implicadas en la síntesis de estradiol en las células mamarias humanas (Figura 3)⁴⁷, sugiriendo un efecto protector del desarrollo de cáncer de mama. En este sentido Gompel y colaboradores^{43,44} han observado que la tibolona aumenta la actividad de la 17b-hidroxiesteroide dehidrogenasa en las células HEM, y que por lo tanto estimula la conversión de estradiol en estrona, un derivado mucho más débil. Además, la tibolona y sus metabolitos principales inhibirían la síntesis de estradiol en las células mamarias de los tumores hormonodependientes (MCF-7 y T47D), mediante la inhibición de la actividad de las enzimas sulfatasa y 17b-hidroxiesteroide dehidrogenasa en esas células^{48,49}, lo que sugiere una actividad como progestágeno similar a la del acetato de nomegestrol 50.

En resumen la tibolona a nivel mamario parece actuar como un progestágeno. Esta actividad parece deberse también aquí a la presencia del isómero L4, el cual actuaría localmente mediante la interacción de al menos los siguientes mecanismos: interacción con el receptor progestagénico, por el que muestra una mayor afinidad que la propia tibolona³⁵, estimulando la proliferación y diferenciación de las células mamarias sanas, y bloqueando la síntesis local de estradiol.

Figura 3. Transformación metabólica de los estrógenos en el tejido mamario (47).

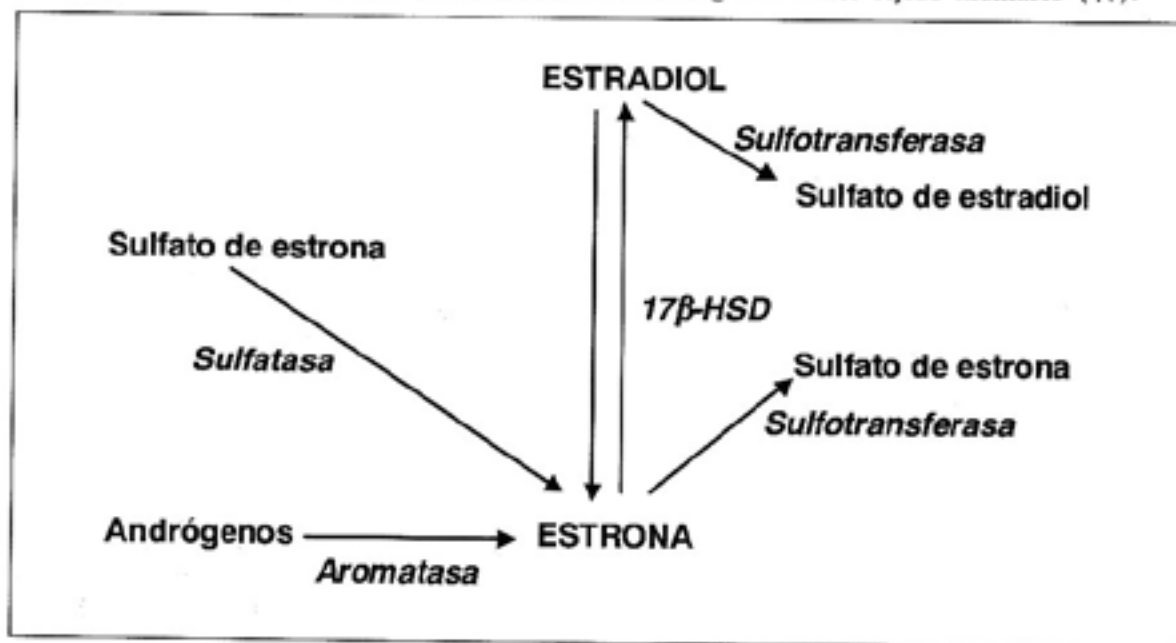
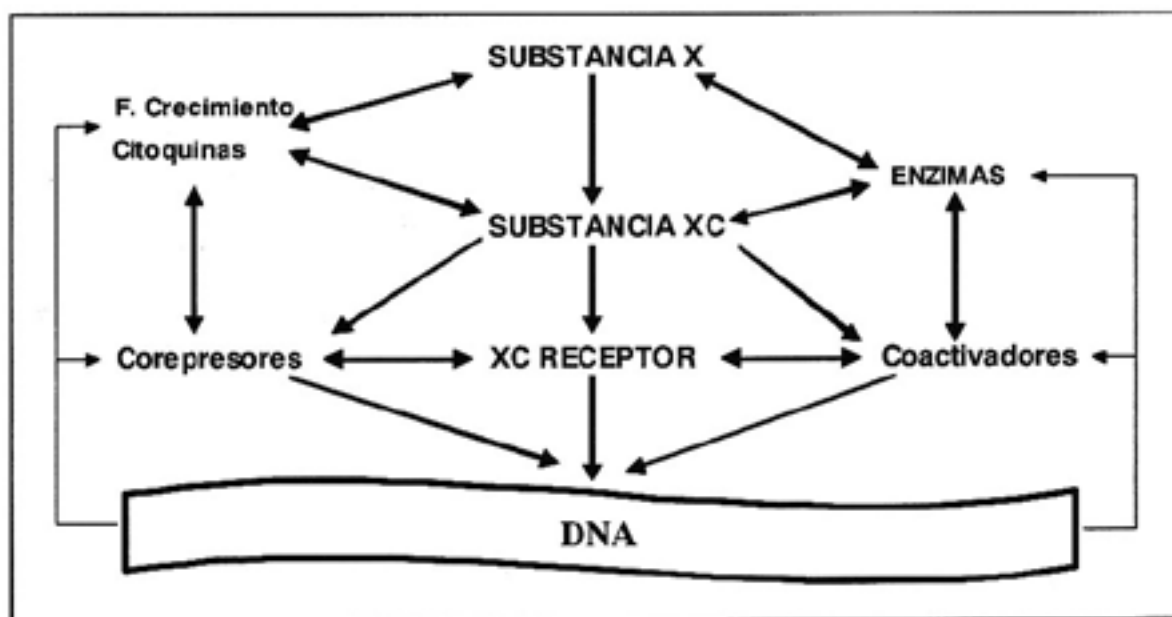


Figura 4. Mecanismos propuestos de acción tejido específica de la tibolona



Conclusión

La tibolona tiene un perfil de efectos clínicos que la hace ser una buena alternativa a la THS clásica, ya que ejerce efectos similares a los estrógenos allí donde estos efectos son necesarios y carece de dichos efectos donde podrían resultar perjudiciales. Esta adecuación de efectos clínicos de la tibolona a las necesidades de la mujer postmenopáusica se debe a la especificidad de acción que tiene la tibolona y sus metabolitos principales en los distintos tejidos en los que actúa. Las actividades tejido específicas de la tibolona se explicarían por la interacción de una serie de mecanismos (Figuras 2 y 3), que variarán en tipo e importancia según el tejido, entre los que se encuentran la conversión en compuestos con distinta actividad biológica, un metabolismo local específico, la clásica interacción con los receptores esteroideos, la interferencia con el metabolismo local, y la estimulación de la diferenciación celular y de la apoptosis. Interacciones que como intenta mostrar la figura 4 son complejas, y hoy por hoy difíciles de entender en su totalidad.

Bibliografía

1. Van Der Vies J. Pharmacological studies with (7 alpha,17 alpha) - 17-hydroxy - 7-methyl - 19-norpregn - 5(10) - en - 20-yn-3-one (Org OD 14). *Maturitas* 1987; Suppl1: 15-24.
2. Herschberger LG, Shipley EG, Meryer RH. Myotrophic activity of 19-nortestosterone and other steroids determined by the modified levator muscle method. *Proc Soc Exp Biol Med* 1953; 83: 175-80.
3. Ederveen AG, Kloosterboer HJ. Tibolone, a steroid with a tissue-specific hormonal profile, completely prevents ovariectomy-induced bone loss in sexually mature rats. *J Bone Miner Res* 1999; 14(11): 1963-1970.
4. Kloosterboer HJ. Tibolone and its metabolites: pharmacology, tissue specificity and effects in animal models of tumors. *Gynecol Endocrinol* 1997; 11 (Suppl 1): 63-68.
5. Ross LA, Alder EM. Tibolone and climacteric symptoms. *Maturitas* 1995; 21(2): 127-136.
6. Genazzani AR, Facchinetti F, Ricci-Danero M, Parrini D, Petraglia F, La Rosa R, D'Antona N. b-lipoprotein and b-endorphin in physiological and surgical menopause. *J Endocrinol Invest* 1981; 4: 375-378.
7. Taskin O, Gokdeniz R, Yalcinoglu A, Buhur A, Burak F, Atmaca R, Ozekici U. Placebo controlled cross-over study of the effects of tibolone on premenstrual symptoms and peripheral beta-endorphin concentrations in premenstrual syndrome. *Hum Reprod* 1998; 13(9): 2402-2405.
8. Ross LA, Alder EM, Cawood EH, Brown J, Gebbie AE. Psychological effects of hormone replacement therapy: a comparison of tibolone and a sequential estrogen therapy. *J Psychosom Obstet Gynaecol* 1999; 20(2): 88-96.
9. Palacios S, Menéndez C, Jurado AR, Castaño R, Vargas JC. Changes in sex behaviour after menopause: effects of tibolone. *Maturitas* 1995; 22: 155-161.

10. Rymer J, Chapman MG, Fogelman I, Wilson POG. A study of the effect of tibolone on the vagina in postmenopausal women. *Maturitas* 1994; 18: 127-133.
11. Berning B, Kuyck C van, Kicovic P, Coelingh Bennink HJT, Fauser BCJM. Effects of withdrawal of HRT with tibolone on bone mineral density in early postmenopausal women. Data on Livial (tibolone). Presented at the 1996 World Congress on Osteoporosis, Asmterdam, The Netherlands.
12. Lippuner K, Hänggi W, Birkhäuser MH, Jaegger Ph. Prevention of postmenopausal osteoporosis in a comparative study with tibolone, oral estradiol and transdermal estradiol. Data on Livial (tibolone). Presented at the 1996 World Congress on Osteoporosis, Asmterdam, The Netherlands.
13. Milner MH, Harrison RF. Bone mineral density changes during two years of treatment with Livial or Prempak-C, in postmenopausal women. Data on Livial (tibolone). Presented at the 1996 World Congress on Osteoporosis, Asmterdam, The Netherlands.
14. Beardsworth SA, Kearney CE, Purdie DW. Prevention of postmenopausal bone loss at lumbar spine and upper femur with tibolone: a two-year randomised controlled trial. *Br J Obstet Gynaecol* 1999; 106(7): 678-683.
15. Paulov PW, Ginsburg T, Kicovic PM, van der Schaaf DB, Prelevic G, Bennink HJ. Double-blind, placebo-controlled study of the effects of tibolone on bone mineral density in postmenopausal osteoporotic women with and without fractures. *Gynecol Endocrinol* 1999; 13(4): 230-237.
16. Kloosterboer HJ, Benedek-Jaszmann LJ, Kicovic PM. Long-term effects of Org OD 14 on lipid metabolism in postmenopausal women. *Maturitas* 1990; 12(1): 37-42.
17. Haenggi W, Lippuner K, Riesen W, Jaeger P, Birkhauser MH. Long-term influence of different postmenopausal hormone replacement regimens on serum lipids and lipoprotein(a): a randomised study. *Br J Obstet Gynaecol* 1997; 104(6): 708-717.
18. Bjarnason NH, Bjarnason K, Haarbo J, Bennink HJ, Chriatiansen C. Tibolone: influence on markers of cardiovascular disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82(6): 1752-1756.
19. Castelo-Branco C, Casals E, Figueras F, Sanjuan A, Vicente JJ, Balasch J, Vanrell JA. Two-year prospective and comparative study of the effects of tibolone on lipid pattern, behaviour of apolipoproteins AI and B. *Menopause* 1999; 6(2): 92-97.
20. Walker ID, Davidson JF, Richards A, Yates R, MacEwan HP. The effect of the synthetic steroid Org OD 14 on fibrinolysis and blood lipids in postmenopausal women. *Thromb Haemost* 1985; 53(3): 303-305.
21. , Prelevic GM, Beljic T, Ginsburg J. The effect of tibolone on cardiac flow in postmenopausal women with non-insulin dependent diabetes mellitus. *Maturitas* 1997; 27(1): 85-90.
22. , 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: 1047-1059.
23. Kenemans P, Stampfer M. Hormone replacement therapy and breast cancer. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* 1996; 67: 1-4.
24. Ginsburg J, Prelevic G, Butler D, Okolo S. Clinical experience with tibolone (Livial®) over 8 years. *Maturitas* 1995; 21: 71-76.
25. Erel CT, Elter K, Akman C, Ersavasti G, Altug A, Seyisoglu H, Ertungealp E. Mammographic changes in women receiving tibolone therapy. *Fertil Steril* 1998; 69(5): 870-875.
26. Winkler UH, Helmond F, Coelingh Bennik H. Effects of Livial and Kliogest on climacteric symptoms and endocrinological parameters: a randomised double-blind study. *Acta Obstet et Gynaecol Scand* 1997; 76(Suppl 167: 5): 57 (Abstract P86.13).
27. Hammar M, Christau S, Nathorst-Böös J, Rud T, Garre K. A double-blind, randomised trial comparing the effects of tibolone and continuous combined hormone replacement therapy in postmenopausal women with menopausal symptoms. *Br J Obstet Gynaecol* 1998; 105(8): 904-911.
28. Valdivia I, Ortega D. A one year evaluation on mammary radiographic density (MxDx) changes with different HRTs regimens in climateric women. *Acta Obstet et Gynaecol Scand* 1997; 76 (Suppl 176: 2) (Abstract P48.8).
29. Genazzani AR, Benedek-Jaszmann LJ, Hart DM, Andolsek L, Kicovic PM, Tax L. Org OD 14 and the endometrium. *Maturitas* 1991; 13(3): 243-251.
30. Ginsuburg J, Prelevic GM. Cause of vaginal bleeding in postmenopausal women taking tibolone. *Maturitas* 1996; 24(1-2): 107-110.

31. Meuwissen JH, Wiegerinck MA, Haverkorn MJ. Regression of endometrial thickness in combination with reduced withdrawal bleeding as a progestational effect of tibolone in postmenopausal women on oestrogen replacement therapy. *Maturitas* 1995; 21(2): 121-125.
32. Egarter C, Huber J, Leikermoser R, Haidbauer R, Pusch H, Fischl F, Putz M. Tibolone versus conjugated estrogens and sequential progestogen in the treatment of climacteric complaints. *Maturitas* 1996; 23(1): 55-62.
33. Receptores esteroideos y mecanismo de acción hormonal. Dirigido por Santiago Palacios. Ediciones Mirpal, Madrid 1996.
34. Tang B, Matkiewicz L, Kloosterboer HJ, Gurside E. Human endometrial 3 beta-hydroxysteroid dehydrogenase/isomerase can locally reduce intrinsic estrogenic/progestagenic activity ratios of a steroidal drug (Org OD 14). *J Steroid Biochem Biol* 1993; 45(5): 345-351.
35. Markiewicz L, Gurside E. In vitro evaluation of estrogenic, estrogen antagonist and progestagenic effects of a steroidal drug (Org OD-14) and its metabolites on human endometrium. *J Steroid Biochem* 1990; 35(5): 535-541.
36. Dubik D, Dembinski TC, Shiu RP. Stimulation of c-myc oncogene expression associated with estrogen-induced proliferation of human breast cancer cells. *Cancer Res* 1987; 47: 6517-6521.
37. Dickson RB, Lippman ME. Estrogenic regulation of growth and polypeptide growth factor secretion in human breast carcinoma. *Endocr Rev* 1987; 8(1): 29-43.
38. Weisz A, Bresciani F. Estrogen induces expression of c-fos and c-myc proto-oncogenes in rat uterus. *Molec Endocrinol* 1988; 2(9): 816-824.
39. Leygue E, Gol-Winkler R, Gompel A, Louis-Sylvestre C, Soquet L, Staub S, Kuttann F, Mauvais-Jarvis P. Estradiol stimulates c-myc proto-oncogene expression in normal human breast epithelial cells in culture. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1995; 52(4): 299-305.
40. Santos GF, Scott GK, Lee WM, Liu E, Benz C. Estrogen-induced post-transcriptional modulation of c-myc proto-oncogene expression in human breast cancer cells. *J Biol Chem* 1988; 263(20): 9565-9568.
41. Dubik D, Shiu RP. Transcriptional regulation of c-myc oncogene expression by estrogen in hormone-responsive human breast cancer cells. *J Biol Chem* 1988; 263(25): 12705-12708.
42. van der Burg B, van Selm-Mitlenburg AJ, de Laat SW, van Zoelen EJ. Direct effects of estrogen on c-fos and c-myc proto-oncogene expression and cellular proliferation in human breast cancer cells. *Mol Cell Endocrinol* 1989; 64(21): 223-228.
43. Gompel A, Kandouz M, Siromachkova M, Lombet A, Thevenin D, Mimoun M, Poitout Ph. The effect of tibolone on proliferation, differentiation and apoptosis in normal breast cells. *Gynecol Endocrinol* 1997; 11(Suppl 1): 77-79.
44. Gompel A, Kandouz M, Siromachkova M, Thevenin D, Lombet A, Rostene W, Poitout Ph. Tibolone (Org OD14) actions on normal and breast cancer cells. In: 16th World Congress on Fertility and Sterility and the 54th Annual Meeting of the American Society for Reproductive Medicine. San Francisco, California, 1998. (Abstract P-191).
45. Kloosterboer HJ, Schoonen WG, Deckers GH, Klijn JG. Effects of progestagens and Org OD14 in in vitro and in vivo tumor models. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1994; 49(4-6): 311-318.
46. Kloosterboer HJ, Deckers GH. Effects of Tibolone (Livial®) and its metabolites on the growth of DMBA induced tumors in rats. *Acta Obstet et Gynaecol Scand* 1997; 76(Suppl167: 5): 59 (Abstract P86.23).
47. Pasqualini JR, Chetrite G. Control of estrone sulfatase activity in human breast cancer cells: effect of tibolone and its metabolites. *Gynecol Endocrinol* 1997; 11(Suppl.1): 69-75.
48. 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(1A): 135-140.
49. Pasqualini JR, Kloosterboer HJ. Estrone sulfatase and 17b-hydroxysteroid dehydrogenase activities in human breast cancer. Inhibitory effect by tibolone and its metabolites. *Acta Obstet et Gynaecol Scand* 1997; 76(Suppl 167: 3): 35 (Abstract FC613.6).
50. Chetrite G, Paris J, Botella J, Pasqualini JR. Effect of norgestrel acetate on estrone-sulfatase and 17b-hydroxysteroid dehydrogenase activities in human breast cancer cells. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1996; 58(5-6): 525-531.