

Ação da tibolona sobre o parênquima mamário

Action of tibolone on the mammary parenchyma

Maria Angélica Guzmán-Silva¹
Carlos Eduardo Pollastri²
Gabriela Monteiro Andrade³
José Augusto Soares Pantaleão²
Ivanisia de Hugo Silva²

Palavras-chave

Terapia de reposição hormonal
Metabolismo
Receptores de esteroides
Mama
Efeitos de drogas

Keywords

Hormone replacement therapy
Metabolism
Receptors, steroids
Breast
Drug effects

Resumo

Tibolona é uma substância hormonal, com ação tecido-específica, usada no tratamento de sintomas do climatério e na prevenção de osteoporose em mulheres na pós-menopausa. Esse trabalho objetivou revisar os efeitos da tibolona no parênquima mamário. Sob ação da tibolona, as atividades da sulfatase que retiram os radicais sulfatos ligados aos estrogênios naturais (estradiol e estrona) estão inibidas. Já as atividades da sulfotransferase que sulfatam os estrogênios naturais estão estimuladas, os inativando. A consequência é o desvio para as formas sulfatadas, que são as formas inativas dos estrogênios. Isto é um efeito direto da tibolona e de seus metabólitos ao nível de parênquima mamário. A tibolona inibe a proliferação de células epiteliais de tecido mamário normal e estimula a apoptose. Estudos clínicos têm mostrado que usuárias de tibolona apresentam menor sensibilidade e dor mamária e não mostram aumento da densidade mamográfica. A relação entre tibolona e risco de câncer de mama é inconclusiva e requer mais investigação.

Abstract

Tibolone is a tissue-specific hormone used for the treatment of climacteric symptoms and the prevention of osteoporosis in post-menopausal women. This work aimed at reviewing the effects of tibolone in the breast. Under action of tibolone, sulphatase activities, which take out sulfate binding to natural estrogens (estradiol and estrone) are inhibited. Sulphotransferase actions, which sulfate the natural estrogens are stimulated, inhibiting them. The consequence is the shift to inactive sulfated forms. This is a direct effect of tibolone and its metabolites in the mammary parenchyma level. Tibolone inhibits epithelial cells proliferation of normal breast tissue and stimulates apoptosis. Clinical researches have shown that tibolone users present low breast sensitivity and breast pain and they have not shown an increase in mammographic density. Tibolone and breast cancer risk are inconclusive and require further investigation.

¹ Professora-associada do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal Fluminense (UFF), Niterói (RJ), Brasil

² Professores adjuntos do Departamento Materno Infantil da Faculdade de Medicina da UFF, Niterói (RJ), Brasil

³ Residente em Tocoginecologia no Hospital Universitário Antonio Pedro (Huap) da UFF, Niterói (RJ), Brasil

Introdução

A tibolona é um fármaco cuja estrutura química deriva da 19-nortestosterona e por suas atividades estrogênicas, androgênicas e progestogênicas, vem sendo utilizada para o tratamento de sintomas do climatério, estando no mercado desde 1988¹(A).

Sua ação no parênquima mamário ocorre por meio de regulação enzimática, diminuindo a sensibilidade e dor mamária²(A) sem aumentar a sua densidade^{2,3}(A), portanto, sem prejudicar o rastreamento mamográfico para câncer de mama.

Este artigo objetiva discorrer sobre o metabolismo da tibolona e sua ação no parênquima mamário, perante as discordâncias sobre a sua participação aumentando o risco de câncer de mama, bem como sobre a proposta de sua utilização terapêutica em pacientes portadoras de câncer mamário.

Metabolismo da tibolona

Depois da administração oral, a tibolona é rapidamente metabolizada em 3 α e 3 β -hidroxitibolona, pela ação das 3 α e 3 β -hidroxisteroide dehidrogenases (HSD) hepática e intestinal. Ambos os hidroximetabólitos da fase I têm uma meia-vida de aproximadamente sete horas e sua concentração plasmática máxima ultrapassa a tibolona em dez vezes, sendo que o metabólito 3 α -hidroxi apresenta uma concentração quatro vezes maior que o metabólito 3 β . Estes dois metabólitos são responsáveis pela ação estrogênica da tibolona. Um terceiro metabólito, o isômero Δ 4 é formado diretamente da tibolona pela atividade da 3 β -HSD isomerase, sendo o metabólito 3 β -hidroxi um substrato potencial^{4,5}(A) (Figura 1). Esse isômero está presente por apenas seis horas na circulação, já que é rapidamente removido dela^{4,5}(A).

O principal metabólito ativo circulante é o 3 α -hidroxiderivado, entretanto, mais de 90% da tibolona e seus metabólitos são en-

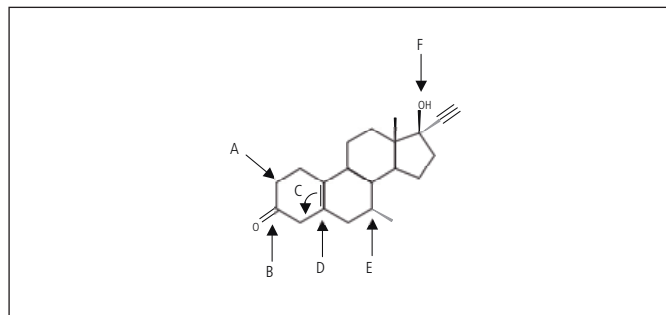


Figura 1 - Resumo das vias metabólicas da tibolona em mulheres pós-menopausadas. A. 2 α -hidroxilação; B. Redução do grupo funcional 3-ceto a 3 α -hidroxi, seguido de sulfatação ou redução para um grupo 3 β -hidroxi; C. Isomerização; D. Redução da dupla ligação Δ 5(10); E. 7 β -hidroxilação; F. Sulfatação do grupo 17 β -hidroxi

contrados na forma sulfatada inativa⁶(A). Do total da dose oral administrada, 50% são encontradas nas fezes como 3 α -hidroxi e 17 β -hidroxi-sulfato, sugerindo que a transformação pela mucosa intestinal e bactérias pode contribuir para o perfil metabólico. Entretanto, a expressão tecido-específica de enzimas envolvidas na ativação da tibolona pode contribuir para a ação seletiva da droga⁵(A). Acredita-se que a sulfatação da tibolona e seus metabólitos, na fase II, tem um papel importante na regulação da atividade esteroideana e em particular nos efeitos tecido-específicos da tibolona. Assim, a expressão tecido-específica das sulfotransferases (SULTs) pode regular a atividade intracelular da tibolona e seus metabólitos⁷(A) (Figura 2).

A própria tibolona e seu derivado isômero Δ 4 são agonistas dos receptores de andrógenos e de progesterona, enquanto os dois 3-hidroximetabólitos são ligantes e ativadores de receptores de estrogênio⁵(A). Estes dois metabólitos 3-hidroxi possuem ação agonista menor que o estradiol. Por exemplo, 2,5 mg de tibolona têm o mesmo efeito que 1,0 mg de estradiol no osso de mulheres na pós-menopausa⁴(A).

In vivo, o isômero Δ 4 ativa os receptores progestogênicos e androgênicos, mas não o receptor estrogênico. Além disso, o grupo 7 α -metil impede este metabólito de ser 5 α -reduzido e perder sua atividade progestogênica¹(A). É importante notar que as conversões enzimáticas entre a tibolona e seus hidroximetabólitos são reversíveis, mas quando a dupla ligação é entre os carbonos 4 e 5, a reversão não é possível⁴(A).

A tibolona e seus metabólitos não têm afinidade para os receptores glicocorticóides¹(A).

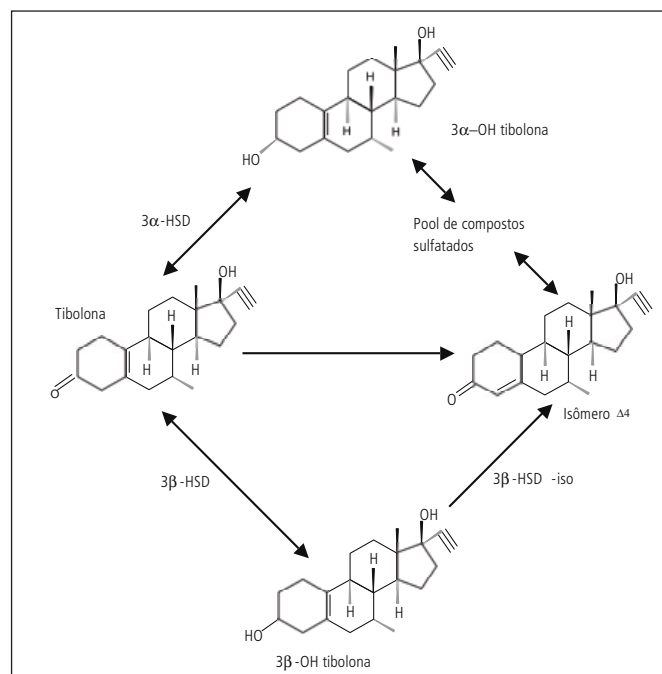


Figura 2 - Metabolismo da tibolona

Resumindo, estudos de farmacocinética mostram que tanto a tibolona quanto seu isômero $\Delta 4$ estão presentes na circulação por um curto período de tempo e que os dois 3-hidroxi metabólitos são os principais metabólitos livres, porém as formas sulfatadas e, portanto, inativas predominam no sangue^{4,6}(A). A tibolona é metabolizada para três metabólitos ativos e os quatro compostos são facilmente sulfatados. A tibolona e o isômero $\Delta 4$ são sulfatados no grupo de 17β -OH pela SULT2A1 e os compostos 17β -sulfato são resistentes à hidrólise pela sulfatase. Os metabólitos 3α -OH e 3β -OH tibolona podem formar 3- e 17-monosulfatos, bem como disulfatos. Apenas os 3β -sulfatos são suscetíveis à hidrólise por sulfatase⁸(A).

Atualmente, há uma grande controvérsia quanto à existência de um outro metabólito, o 7α -metil- 17α -etinilestradiol (7α -MEE), com potente ação estrogênica, sendo convertido a partir de tibolona por aromatases hepáticas^{1,9-12}(A).

A relevância clínica da formação de 7α -MEE a partir da tibolona ainda não é clara. Entretanto, ensaios pré-clínicos revelaram que o 7α -MEE é um potente estrogênio com atividade comparável a 17α -etinil- 17β -estradiol (EE2) e 17β -estradiol (E2). Estudos *in vitro* mostram que o 7α -MEE pode se ligar a receptores estrogênicos alfa (ER α) e a receptores estrogênicos beta (ER β). Portanto, é provável que o 7α -MEE tenha atividade estrogênica maior que os metabólitos 3α e 3β -hidroxitibolona, visto que, em geral, a introdução de um radical 7α -metil em um esteroide sexual aumenta sua eficácia hormonal⁹(A).

No entanto, alguns estudos experimentais tentam provar que a tibolona não é convertida por aromatase humana em 7α -MEE. Trabalhos *in vitro*, utilizando técnicas avançadas, comprovaram que a tibolona e seus metabólitos, 3α e 3β -hidroxitibolona, não são metabolizados por aromatases humanas em 7α -MEE. O 7α -MEE poderia ser, na realidade, não um metabólito da tibolona, mas um artefato químico gerado durante os procedimentos analíticos mediante cromatografia gasosa e espectrometria de massa. Contudo, o 7α -MEE não pode ser demonstrado pela técnica de cromatografia líquida e espectrometria de massa, em sistema não biológico¹⁰(A), nem no plasma de mulheres na pós-menopausa, usuárias de doses simples ou múltiplas de tibolona¹¹(A).

A aromatização dos esteroides é um processo complexo de reações consecutivas de oxidação que são catalisadas por enzimas citocromo P450 e resultam na conversão de um androgênio em um estrogênio. A conversão dos androgênios naturais C19 (testosterona e androstenediona) para 17β -estradiol e estrona depende da eliminação oxidativa do grupo metil do carbono 19. Essa complexa reação é catalisada pelo sistema aromatase citocromo P450 que está presente em muitos tecidos do adulto

humano, como ovário e tecido adiposo, mas não é expresso no fígado. Contudo, os derivados da 19-nortestosterona (noretisterona, noretinodrel e tibolona) caracterizam-se pela falta do grupo C19-metil. Portanto, esses esteroides sintéticos podem realmente ser aromatizados no fígado humano adulto por outras enzimas citocromo P450. Assim, tal mecanismo pode promover a conversão da noretisterona ou do noretinodrel em potentes estrogênios como o EE2 e a conversão da tibolona em 7α -MEE. Como a potência estrogênica do 7α -MEE é similar ao EE2, o tratamento da mulher na pós-menopausa com tibolona pode estar associado a alguns riscos, como aumento de doença tromboembólica em mulheres com sangramento na pré-menopausa tratadas com alta dose de noretisterona ou risco elevado de derrame ou doença endometrial em mulheres na pós-menopausa tratadas com tibolona¹²(A).

A tibolona e seus metabólitos possuem propriedades distintas nos tecidos-alvo. Assim, a tibolona age como um composto tecido-específico cujos efeitos são mediados por receptores esteroides e por vias enzimáticas. As atividades da tibolona e seus metabólitos podem ser estreitamente reguladas pela interação entre SULT e sulfatase; a atividade enzimática local confere ação tecido-específica aos compostos de tibolona que, portanto, dependem da atividade local SULT/sulfatase em cada tecido. Em última análise, esta traduz o valor clínico da tibolona como um composto com efeitos desejáveis sobre a perda óssea e os sintomas climatéricos da menopausa, mas faltam os efeitos menos desejáveis estimuladores em endométrio e mama⁷(A).

Metabolismo esteroide na mama

A mama é uma complicada fonte de estrogênio, pois o tecido mamário normal e anormal contém todas as enzimas necessárias para a formação de estrogênios (sulfatase, aromatase, e 17β -hidroxiesteroide desidrogenase) e da conversão em seus sulfatos de estrogênios (sulfotransferase)¹³(A).

Enzimas que metabolizam esteroides, no tecido mamário, resultam na síntese de estrogênios originários de androgênios produzidos pela adrenal (Figura 3). A enzima aromatase transforma, irreversivelmente, androstenediona em estrona, sendo sua atuação predominante no estroma mamário. As concentrações de estrona sulfato são elevadas na mama (inclusive mais elevadas do que no plasma) e são ainda maiores no tecido canceroso. Isto ocorre em mulheres pós-menopáusicas com níveis muito baixos de estrogênio sistêmico, indicando que o mecanismo de formação é local. A principal via de síntese de estrogênio nas células tumorais de mama humana é a conversão de estrona sulfato em estrona pela estrona sulfatase, sendo mais importante do que a

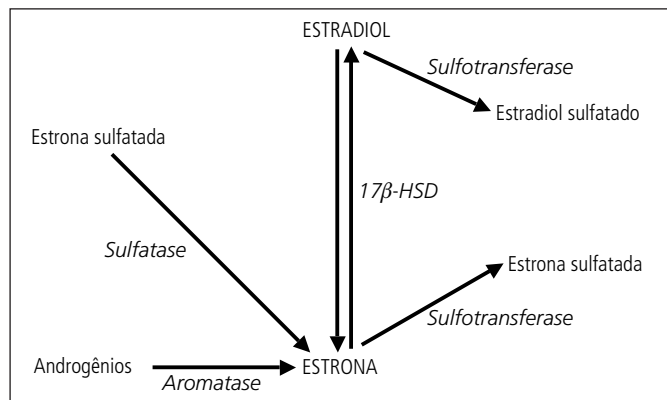


Figura 3 - Transformação metabólica dos estrogênios no tecido mamário humano

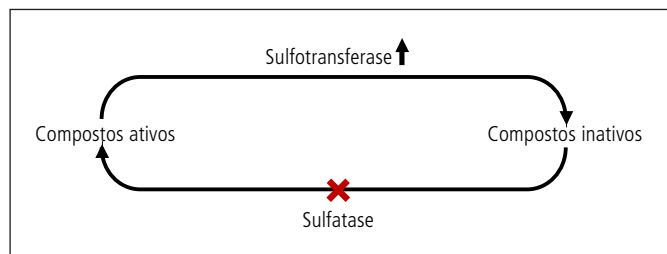


Figura 4 - Papel do sistema sulfatase-sulfotransferase na regulação dos níveis de estrogênios ativos e inativos

via aromatase¹³(A). Os dados quantitativos em câncer de mama humano mostram que a via sulfatase, que transforma o estrogênio sulfatado em E2, forma não conjugada e bioativa, é de 100 a 500 vezes maior do que a via aromatase, a qual converte andrógenos em estrógenos¹⁴(A).

Em tecidos mamários normais, a enzima 17β-hidroxiesteroide dehidrogenase (17β-HSD) tipo I pode converter estrona em estradiol, o estrogênio mais potente, enquanto a isoenzima 17β-HSD tipo II pode converter estradiol em estrona. Esta enzima está sob o controle de progestinas que regulam a sua síntese⁴(A).

Tecidos mamários normais contêm a enzima SULT que possui uma alta afinidade pela estrona. A estrona sulfatada pode ser desconjugada pela enzima sulfatase⁴(A) (Figura 4). A estrona SULT pertence a uma superfamília de sulfotransferases de esteroides, cada uma com sua própria especificidade tecidual e de substrato, atuando na fase II do metabolismo. Essa superfamília é codificada por vários genes e já foram identificadas ao menos 11 isoformas que podem sulfatar a tibolona e seus metabólitos em tecidos humanos⁷(A). Existe apenas um gene para sulfatase⁴(A).

SULT1E1 e SULT2A1 são as principais isoformas envolvidas na sulfatação de tibolona e seus metabólitos. SULT2A1 é expressa em diversos órgãos humanos, entre eles o fígado e o intestino, sendo capaz de sulfatar tibolona e os três metabólitos com maior afinidade para 3α-OH-tibolona. SULT1E1 conjuga-

se levemente em ambos metabólitos 3-OH-tibolona e a própria tibolona. SULT2B1b sulfata ambos metabólitos 3-OH, mas não a tibolona ou seu isômero Δ4⁷(A). Dados indicam que SULT1E1 tem expressão relativamente alta em tecido epitelial mamário normal, enquanto a expressão de SULT1E1 é significativamente menor nos tecidos cancerosos da mama. Em contraste, SULT1A1 tem expressão mais alta em cânceres da mama do que em tecidos normais⁸(A). A expressão de SULT1E1 em tecidos é limitada, mas apresenta um grande papel na regulação da atividade de β-estradiol no endométrio, na qual é expressa ciclicamente e na mama. Assim, nesses tecidos, na pós-menopausa, a expressão de SULT1E1 não seria antecipada. SULT2B1b é expressa em tecidos normais e cancerosos da mama, mas não no endométrio. SULT2A1 não tem expressão no tecido mamário⁷(A).

Um grande número de estudos clínicos e *in vitro* vem investigando se a tibolona e seus metabólitos podem inibir e/ou regular as várias enzimas que metabolizam esteroides presentes na mama no tecido normal e também, no canceroso¹⁴⁻¹⁶(A).

A inibição da formação de estradiol a partir do sulfato de estrona, devido à ação da tibolona, ocorre pela via preferencial de inibição da sulfatase¹³(A). Em citosol de tecido mamário não é detectada atividade de sulfatação da tibolona ou dos seus metabólitos⁷(A). Em adição, a tibolona pode bloquear a conversão de estrona em estradiol pela inibição da 17β-HSD tipo I. Por outro lado, a tibolona e seu metabólito Δ4 podem induzir a 17β-HSD tipo II em células epiteliais de mama humana^{1,14}(A).

Além disso, a formação do sulfato de estrona a partir da estrona, pela SULT, é estimulada pela tibolona em baixas concentrações^{13,14,16}(A).

A falta de estimulação estrogênica pela tibolona e seus metabólitos na mama pode ser explicada, ao menos em parte, por suas ações na regulação de enzimas e subsequente síntese estrogênica. Indução da 17β-HSD tipo II e estimulação da SULT direcionam o estradiol para o hormônio inativo sulfato de estrona. Os dois metabólitos estrogênicos 3-hidroxi da tibolona são sulfatos. Por meio de uma ação combinada de estimulação de SULT e inibição de sulfatase o equilíbrio entre as formas livres e conjugadas dos metabólitos pesa mais para o lado de compostos inativos⁴(A).

Estas ações no tecido mamário privam seletivamente os receptores de estrogênio do seu ligante natural. Diferenças na inibição ou na regulação de sulfatase na mama *versus* células ósseas podem ser responsáveis do efeito (estrogênico) osso-protetor da droga⁵(A). Em estudos *in vitro*, a sulfatase na mama é inibida fortemente pela tibolona e seus metabólitos, o que não acontece com a sulfatase óssea. Isso mostra que a tibolona tem um mecanismo de ação único⁴(A), porém dependente da ativação

enzimática local e da presença de receptores específicos para o metabólito ativado.

O padrão tecido-específico de inibição da atividade sulfatase por tibolona e seus metabólitos sugere que a tibolona pode ser protetora contra o desenvolvimento de carcinoma mamário e poderia ser empregada como agente terapêutico em portadoras de câncer de mama^{17,18}(A). Contudo, novos ensaios clínicos são necessários para definir como a tibolona e seus metabólitos atuam em função da dose e duração do tratamento.

Ação da tibolona sobre o parênquima mamário

A principal razão das mulheres utilizarem a terapêutica hormonal são os sintomas da pós-menopausa e, nesta área, a tibolona apresenta um bom desempenho. Diversos estudos clínicos têm mostrado que a sensibilidade e a dor mamária estão diminuídas em mulheres tratadas com tibolona^{13,19}(A). Entretanto, em um estudo com 64 mulheres, o uso de tibolona ou de placebo resultou em significativa redução de sensibilidade mamária e mastalgia²⁰(A). Algumas publicações mostraram que 6% de mulheres tiveram um aumento da dor mamária e um mesmo percentual de diminuição⁴(A).

A tibolona não aumenta a densidade mamária e, portanto, não afeta negativamente o rastreamento mamográfico utilizado para câncer de mama^{13,19}(A). Estudos clínicos relatam diminuição na densidade mamográfica após um ano de tratamento com tibolona²(A), ou nenhuma alteração da densidade mamográfica em mulheres pós-menopausadas tratadas por um ano, ou até, por mais de dez anos. Portanto, a tibolona parece exercer pouca estimulação do tecido mamário³(A).

Há uma relação entre a terapia de reposição hormonal (TRH) e a sensibilidade mamária, de modo que a tibolona provoca menor aumento da densidade mamográfica e menor aumento da sensibilidade mamária. Assim, a tibolona deve ser a primeira escolha nos casos com mastopatia benigna e densidade da mama¹⁷(A).

Em 2005, o *International Tibolone Consensus Group* (ITCG) chegou ao consenso de que a tibolona causa menos sensibilidade e mastalgia que a TRH com estrogênio e progestagênio (EPT), e não determina aumento da densidade mamográfica, considerando comprobatório o nível de evidências¹⁹(A).

Como previsto, a partir do seu mecanismo de ação, ensaios clínicos controlados e randomizados demonstraram que a tibolona tem um efeito clínico na mama diferente do que EPT. Em nível celular, a tibolona não aumenta a proliferação no tecido mamário, enquanto estimula a apoptose²¹(A), bem como a diferenciação celular, o que foi comprovado em estudos *in vitro* com

células mamárias normais e cancerosas^{13,19}(A). Entre as evidências clínicas, um ano de tratamento com tibolona (2,5 mg) induziu diminuição na densidade mamária, com redução na proliferação e estimulação da apoptose²(A). Em outro estudo, a proliferação foi significativamente maior ($p < 0,05$) com EPT do que com tibolona ou placebo²²(A), assim como outros registraram ausência de alterações significativas durante o tratamento com tibolona ou placebo, concluindo que a tibolona parece ter pouca influência sobre a proliferação celular na mama²³(A).

Há controvérsias quanto à participação da tibolona aumentando o risco de câncer de mama. Algumas evidências indicam que não há aumento do risco relativo (RR) de câncer de mama em usuárias de tibolona, comparado com placebo¹⁹(A). Estudos clínicos em Fase III e Fase IV, envolvendo 4.537 mulheres na pós-menopausa, relatam a incidência de câncer de mama de 1,59 por 1.000 mulheres/ano no grupo tratado com tibolona (RR=0,50; IC95%=0,11-2,54), em comparação ao 3,15 no Grupo Placebo. Contudo, a diferença não alcançou significância estatística¹³(A). A reavaliação de dados de várias pesquisas mostra que os números absolutos de mulheres em risco de câncer de mama com estrogênio terapia (ET) e tibolona é baixo, e que o risco com tibolona é menor do que com EPT. Portanto, a tibolona pode ser preferível ao EPT em mulheres que conservam o útero, e a ET em mulheres hysterectomizadas, propensas a problemas sexuais e de humor¹⁹(A).

Já o estudo *Million Women Study* (MWS) relata um aumento do RR de câncer de mama com tibolona (RR=1,45; IC95%=1,25-1,68), embora este seja significativamente ($p < 0,0001$) inferior ao registrado com EPT. Os resultados do MWS sugerem pouco ou nenhum aumento global no RR de câncer de mama em mulheres na pós-menopausa que tenham usado tibolona no passado. Este achado coincide, em geral, com os resultados prévios que sugeriam que os efeitos sobre o risco de câncer de mama em mulheres em uso de TRH diminuem consideravelmente no prazo de cinco anos após a interrupção do tratamento²⁴(A).

Em estudo epidemiológico, efetuado no Reino Unido e designado *General Practice Research Database* (UK GPRD), não foi verificado risco aumentado com tibolona (RR=1,02; IC95%=0,78-1,33)¹⁹(A).

Outro estudo clínico multicêntrico, randomizado, duplo-cego, placebo-controlado, em 4.538 pacientes, o uso de tibolona (1,25 mg) foi associado a uma diminuição do risco de fraturas, bem como de câncer de mama e possivelmente de câncer de cólon. No entanto, houve aumento do risco de acidente vascular cerebral (AVC) em mulheres idosas com osteoporose. Portanto, a tibolona não deve ser utilizada em mulheres de idade avançada e mulheres com fatores de risco para AVC²¹(A).

Em 2005, o consenso do *International Tibolone Consensus Group* (ITCG), em relação à seguridade do uso de tibolona, diz que o nível de evidência é inconclusivo, requerendo novos ensaios controlados e randomizados para se chegar a uma conclusão acerca da tibolona e o câncer de mama¹⁹(A).

O estudo multinacional e multicêntrico, randomizado, duplo-cego, placebo-controlado denominado *Livial Intervention Following Breast Cancer; Efficacy, Recurrence, And Tolerability Endpoints* (LIBERATE) foi efetuado para estabelecer se a tibolona pode ser prescrita para mulheres com uma história de câncer de mama para aliviar as suas queixas climatéricas, sem aumentar o risco de recorrência²⁸(A). No entanto, a pesquisa foi interrompida prematuramente, seis meses antes do previsto, pois foi verificado que de 402 doentes com câncer de mama com recorrência, havia significativamente mais recorrências no grupo de mulheres aleatoriamente designadas para receber tibolona do que no Grupo Placebo. Os achados desse estudo indicam que a tibolona aumenta o risco de recidiva em pacientes com câncer de mama, enquanto alivia os sintomas

vasomotores e previne a perda óssea. Isto implica que o uso da tibolona permanecerá contra-indicado em mulheres com suspeita ou passado conhecido de câncer de mama²⁵(A).

Considerações finais

A tibolona tem um mecanismo de ação não proliferativo no parênquima mamário, por seu estímulo à SULT, desviando os estrogênios ativos naturais para sua forma sulfatada e inativa. Existe, com isso, estímulo da apoptose e inibição da proliferação celular no parênquima mamário, diminuindo a sensibilidade/dor e a densidade mamária.

Embora não esteja bem definida sua relação com câncer de mama, há um consenso de que a tibolona é uma valiosa opção de tratamento das mulheres com queixas na menopausa. Entretanto, as contra-indicações ao uso de tibolona devem ainda ser as mesmas estabelecidas para EPT/ET. Mais estudos são necessários para se chegar a uma conclusão definitiva.

Leituras suplementares

- Kloosterboer HJ. Tissue-selectivity: the mechanism of action of tibolone. *Maturitas*. 2004;48(Suppl 1):S30-40.
- Valdivia I, Campodonico I, Tapia A, Capetillo M, Espinoza A, Lavin P. Effects of tibolone and continuous combined hormone therapy on mammographic breast density and breast histochemical markers in postmenopausal women. *Fertil Steril*. 2004;81(3):617-23.
- Marchesoni D, Driul L, Ianni A, Fabiani G, Della Martina M, Zuiani C, et al. Postmenopausal hormone therapy and mammographic breast density. *Maturitas*. 2006;53(1):59-64.
- Kloosterboer HJ. Tissue-selective effects of tibolone on the breast. *Maturitas*. 2004;49(1):S5-S15.
- Steckelbroeck S, Oyesanmi B, Jin Y, Lee S, Kloosterboer HJ, Penning TM. Tibolone metabolism in human liver is catalyzed by 3alpha/3beta-hydroxysteroid dehydrogenase activities of the four isoforms of the aldo-keto reductase (AKR)1C subfamily. *J Pharmacol Exp Ther*. 2006;316(3):1300-9.
- Verheul HA, Timmer CJ, Kloosterboer HJ. Pharmacokinetic parameters of sulfated tibolone metabolites in postmenopausal women after single and multiple doses of tibolone. *Clin Pharmacol Ther*. 2007;81(4):573-9.
- Falany JL, Macrina N, Falany CN. Sulfation of tibolone and tibolone metabolites by expressed human cytosolic sulfotransferases. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2004;88(4-5):383-91.
- Falany JL, Falany CN. Interactions of the human cytosolic sulfotransferases and steroid sulfatase in the metabolism of tibolone and raloxifene. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2007;107(3-5):202-10.
- Wiegatz I, Sängner N, Kuhl H. Formation of 7 alpha-methyl-ethinyl estradiol during treatment with tibolone. *Menopause*. 2002;9(4):293-5.
- Zacharia LC, Jackson EK, Kloosterboer HJ, Imthurn B, Dubey RK. Conversion of tibolone to 7alpha-methyl-ethinyl estradiol using gas chromatography-mass spectrometry and liquid chromatography-mass spectrometry: interpretation and clinical implications. *Menopause*. 2006;13(6):926-34.
- Dröge MJ, Oostebing F, Oosting E, Verheul HA, Kloosterboer HJ. 7alpha-Methyl-ethinyl estradiol is not a metabolite of tibolone but a chemical stress artifact. *Menopause*. 2007;14(3 Pt 1):474-80.
- Kuhl H, Wiegatz I. Can 19-nortestosterone derivatives be aromatized in the liver of adult humans? Are there clinical implications? *Climacteric*. 2007;10(4):344-53.
- Speroff L, Clarkson TB. Is tibolone a viable alternative to HT? *Contemp Ob Gyn*. 2003;48(8):54-68.
- Pasqualini JR, Chetrite GS. Recent insight on the control of enzymes involved in estrogen formation and transformation in human breast cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2005;93(2-5):221-36.
- Kloosterboer HJ, Löfgren L, von Schoultz E, von Schoultz B, Verheul HA. Estrogen and tibolone metabolite levels in blood and breast tissue of postmenopausal women recently diagnosed with early-stage breast cancer and treated with tibolone or placebo for 14 days. *Reprod Sci*. 2007;14(2):151-9.
- Pasqualini JR. Progestins and breast cancer. *Gynecol Endocrinol*. 2007;23 Suppl 1:32-41.
- Bundred NJ, Turner LE. Postmenopausal hormone therapy before and after breast cancer: clinical experiences. *Maturitas*. 2004;49(1):S22-31.
- Kenemans P, Kubista E, Foidart JM, Yip CH, von Schoultz B, Sismondi P, et al. Safety of tibolone in the treatment of vasomotor symptoms in breast cancer patients – design and baseline data 'LIBERATE' trial. *Breast*. 2007;16 Suppl 2:182-9.
- Kenemans P, Speroff L, International Tibolone Consensus Group. Tibolone: clinical recommendations and practical guidelines. A report of the International Tibolone Consensus Group. *Maturitas*. 2005;51(1):21-8.
- Palomba S, Di Carlo C, Morelli M, Russo T, Noia R, Nappi C, et al. Effect of tibolone on breast symptoms resulting from postmenopausal hormone replacement therapy. *Maturitas*. 2003;45(4):267-73.
- Cummings SR, Ettinger B, Delmas PD, Kenemans P, Stathopoulos V, Verweij P, et al. The effects of tibolone in older postmenopausal women. *N Engl J Med*. 2008;359(7):697-708.
- von Schoultz B. The effects of tibolone and oestrogen-based HT on breast cell proliferation and mammographic density. *Maturitas*. 2004;49(1):S16-21.
- Conner P, Christow A, Kersemaekers W, Söderqvist G, Skoog L, Carlström K, et al. A comparative study of breast cell proliferation during hormone replacement therapy: effects of tibolone and continuous combined estrogen-progestogen treatment. *Climacteric*. 2004;7(1):50-8.
- Beral V, Million Women Study Collaborators. Breast cancer and hormone-replacement therapy: the Million Women Study. *Lancet*. 2003;362(9382):419-27.
- Kenemans P, Bundred NJ, Foidart J, Kubista E, von Schoultz B, Sismondi P, et al. Safety and efficacy of tibolone in breast-cancer patients with vasomotor symptoms: a double-blind, randomised, non-inferiority trial. *Lancet Oncol*. 2009;10(2):135-46.