

## VIDENSKAB OG PRAKSIS | OVERSIGTSARTIKEL

- Katzenellenbogen BS, Choi I, Delage-Mourroux R et al. Molecular mechanisms of estrogen action. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2000;74:279-85.
- Hall JM, McDonnell DP. The estrogen receptor  $\beta$ -isoform (ER $\beta$ ) of the human estrogen receptor modulates ER $\alpha$  transcriptional activity and is a key regulator of the cellular response to estrogens and antiestrogens. *Endocrinol* 1999;140:5566-78.
- Taylor AH, Al Azzawi F. Immunolocalisation of oestrogen receptor beta in human tissues. *J Mol Endocrinol* 2000;24:145-55.
- Poola I, Abraham J, Baldwin K. Identification of ten exon deleted ERbeta mRNAs in human ovary, breast, uterus and bone tissues: alternate splicing pattern of estrogen receptor beta mRNA is distinct from that of estrogen receptor alpha. *FEBS Lett* 2002;516:133-8.
- Pau CY, Pau KY, Spies HG. Putative estrogen receptor beta and alpha mRNA expression in male and female rhesus macaques. *Mol Cell Endocrinol* 1998;146:59-68.
- Pfaffl MW, Lange IG, Daxenberger A et al. Tissue-specific expression pattern of estrogen receptors (ER): quantification of ER alpha and ER beta mRNA with real-time RT-PCR. *APMIS* 2001;109:345-55.
- Bord S, Horner A, Beavan S et al. Estrogen receptors  $\alpha$  and  $\beta$  are differentially expressed in developing human bone. *J Clin Endocrinol Metabolism* 2001;86:2309-14.
- Brzozowski AM, Pike ACW, Dauter Z et al. Molecular basis of estrogen antagonism in the oestrogen receptor. *Nature* 1997;389:753-8.
- Lonard DM, Smith CL. Molecular perspectives on selective estrogen receptor modulators (SERMs): progress in understanding their tissue-specific agonist and antagonist actions. *Steroids* 2002;67:15-24.
- Moggs JG, Orphanides G. Estrogen receptors: orchestrators of pleiotropic cellular responses. *EMBO Reports* 2001;2:775-81.
- Dutertre M, Smith CL. Molecular mechanisms of selective estrogen receptor modulator (SERM) action. *J Pharmacol Experiment Therapeutics* 2000;295:431-7.
- Sanchez R, Nguyen D, Rocha W et al. Diversity in the mechanisms of gene regulation by estrogen receptors. *Bio Essays* 2002;24:244-54.
- Routledge EJ, White R, Parker MG et al. Differential effects of xenoestrogens on coactivator recruitment by estrogen receptor (ER)  $\alpha$  and ER  $\beta$ . *J Biol Chem* 2000;275:35986.
- Kushner PJ, Agard DA, Greene GL et al. Estrogen receptor pathways to AP-1. *J Steroid Biochem Molecular Biol* 2000;74: 311-7.
- Shao W, Halachmi S, Brown M. ERAP140, a conserved tissue-specific nuclear receptor coactivator. *Mol Cell Biol* 2002;22:3358-72.
- Kressler D, Schreiber SN, Knutti D et al. The PGC-1-related protein PERC is a selective coactivator of estrogen receptor alpha. *J Biol Chem* 2002;277:13918-25.
- Suen CS, Berrodin TJ, Mastroeni R et al. A transcriptional coactivator, steroid receptor coactivator-3, selectively augments steroid receptor transcriptional activity. *J Biol Chem* 1998;273:27645-53.
- Hall JM, McDonnell DP, Korach KS. Allosteric regulation of estrogen receptor structure, function and coactivator recruitment by different estrogen response elements. *Molecular Endocrinol* 2002;16:469-86.
- Nadal A, Diaz M, Valverde MA. The estrogen trinity: membrane, cytosolic, and nuclear effects. *News in Physiol Sci* 2001;16:251-5.
- Le Goff P, Montano MM, Schodin DJ et al. Phosphorylation of the human estrogen receptor. *J Biol Chem* 1994;269:4458-66.
- Inadera H, Hahimoto S-I, Dong H-Y et al. WISP-2 as a novel estrogen-responsive gene in human breast cancer cells. *Biochem Biophysical Res Comm* 2000;275:108-14.
- Safe SH. Transcriptional activation of genes by 17 $\beta$ -estradiol through estrogen receptor-Sp1 interactions. *Vitamins Hormones* 2001;62:231-52.
- Shang Y, Brown M. Molecular determinants for the tissue specificity of SERMs. *Sci* 2002;295:2468.
- Charpentier AH, Bednarek AK, Daniel RL et al. Effects of estrogen on global gene expression: identification of novel targets of estrogen action. *Cancer Res* 2000;60:5977-83.
- Soulez M, Parker MG. Identification of novel estrogen receptor target genes in human ZR75-1 cancer cells by expression profiling. *J Molecular Biol* 2001;27:259-74.

# Østrogeneres molekylære virkemekanismer

## Kliniske aspekter, herunder industrielle østrogener og fytoøstrogener

Stud.scient. Marie Louise Hagen, stud.med. Morten Hellmers,  
1. reservelæge Bo Abrahamsen & overlæge Claus Hagen

Odense Universitetshospital, Endokrinologisk Afdeling M

### Resumé

Mange stoffer har østrogenlignende effekter, men både styrken og arten af det respons, en given ligand fremkalder, afhænger af en række modificerende faktorer. Der er to varianter af østrogenreceptoren, som binder ligander med forskellig affinitet, og som adskiller sig med hensyn til deres evne til at initiere ekspresion fra forskellige gener. Desuden udtrykkes de to receptorsubtyper i forskellig grad i forskellige vævs- og celletyper. Samtidig inducerer hver ligand ved binding til receptorerne unikke konformationsændringer. Den antagne konformation er afgørende for efterfølgende interaktion med kofaktorer, andre transkriptionsfaktorer og DNA og dermed også for transkriptionsinitieringen og det efterfølgende cellulære respons. Derudover spiller også forekomsten af henholdsvis koaktivatorer og korepressor samt eventuelle membranbundne receptorer en rolle i østrogenresponsen, ligesom fosforylering og den lokale kromatinstruktur kan have betydning.

Østrogener har betydning for udviklingen af nogle af de mest udbredte maligne sygdomme i den vestlige verden, blandt andet mamma- og endometrie-cancer. Østrogenmangel spiller en væsentlig rolle i udviklingen af osteoporose, mens dens betydning for demens og ikke mindst iskæmisk hjertesygdom fortsat er kontroversiel. Langtidsbehandling med ekvivalente østrogener og medroxyprogesteronacetat blev således i Women's Health Initiative [1] vist at føre til en knap 30% øget forekomst af akut myokardieinfarkt. Uønskede østrogenlignende stoffer i omgivelserne er samtidig en kilde til vedvarende bekymring og diskussion i offentligheden.

I denne artikel fokuseres der på de molekylære mekanismer bag specielt de eksogene østrogeneres virkning. En forståelse heraf er en forudsætning for udviklingen af specifikt virkende medikamenter og for vurdering af risikoen ved industrielle østrogener og fytoøstrogener (planteøstrogener). Det gælder generelt, at observationerne er stærkt afhængige af den valgte cellulære model og dermed også genstand for betydelig kontrovers.

## VIDENSKAB OG PRAKSIS | OVERSIGTSARTIKEL

<p><b>To østrogenreceptorer <math>\alpha</math> og <math>\beta</math>:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- udtrykkes i forskellig grad i forskellige væv</li> <li>- binder ligander med forskellig affinitet</li> <li>- påvirker transkription forskelligt</li> </ul> <p><b>Forskellige ligander inducerer forskellige konformationsændringer</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- specielt positionen af helix 12 i AF-2</li> <li>- betydning for rekruttering af kofaktorer</li> <li>- interaktion med andre transkriptionsfaktorer</li> <li>- interaktion med DNA</li> </ul> <p><b>Kofaktorer udtrykkes i forskellig grad i forskellige vævs- og celletyper</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Forholdet mellem koaktivatorer og korepressor har betydning for endeligt respons</li> </ul>
--

Figur 1. Endo- og eksogene østrogener fremkalder varierende effekter i forskellige væv. Kompleksiteten skyldes blandt andet, at der findes to subtyper af østrogenreceptorer, at forskellige ligander inducerer forskellige konformationsændringer, og at kofaktorer udtrykkes i forskellig grad i forskellige vævs- og celletyper.

### Endogene østrogener

De vigtigste endogene østrogener og deres samspil med østrogenreceptorerne (ER) er omtalt i dette nummer af Ugeskrift for Læger [1]. De dele af kompleksiteten, der er vigtigst for forståelsen af de varierende effekter, forskellige ligander kan fremkalde, er samlet i **Figur 1**.

### Farmakologisk påvirkning af østrogenreceptoren

Fælles for de eksogene agonister og antagonist gælder naturligvis, at de kan binde til østrogenreceptorerne og derigennem udløse eller blokere biologiske virkninger. Effekten varierer imidlertid i natur afhængig af, hvilken ligand der er tale om. Ligander med varierende struktur inducerer således forskellige konformationsændringer i receptoren [2], og de respektive konformationer har betydning for receptorens interaktion med kofaktorproteiner og DNA og dermed det cellulære respons.

Positionen af receptorens helix 12 er central for kofaktorrekruttering [3]. Helix 12 er placeret henover den ligandbindende lomme (LBD), når det endogene østrogen  $E_2$  er bundet til receptoren. Her danner den en overflade, hvortil koaktivatorer kan binde [3].

Når antagonist binder til ER- $\alpha$ , flyttes helix 12 således, at den interagerer med den hydrofobe koaktivatorbindende lomme, hvorved koaktivatorer forhindres i at binde [3]. Positionen af helix 12 kan muligvis forudsige, om en ligand er agonist eller antagonist [4].

Der er dog undtagelser, idet konformationen efter binding af fytoøstrogenet genistein til ER- $\beta$  ikke befinder sig i den kendte agonistformation, på trods af at genistein virker delvist agonistisk [4]. Helix 12 indtager her en mellemposition. At positionen af helix 12 ikke kun er forskellig, når antagonist og agonister er bundet til receptoren, men også når forskellige agonister er bundet, understreger blot, at hver ligand har en unik biologisk profil [3].

Nogle ligander udviser endvidere forskellig bindingsaffinitet for de to receptorsubtyper [5].  $E_2$  binder således lige godt til ER- $\alpha$  og ER- $\beta$ , mens raloxifen binder fem gange bedre til ER- $\alpha$  end til ER- $\beta$  og genistein omvendt binder 50 gange bedre til ER- $\beta$  end til ER- $\alpha$  [5].

### Lægemedler

Den biologiske effekt af *selective estrogen receptor modulators* (SERM) varierer, som betegnelsen antyder, mellem forskellige væv. En række stoffer med østrogenvirkning har klare receptor- og postreceptorselektive karakteristika, men i det følgende vil vi reservere betegnelsen SERM til lægemidler, hvis dominerende virkning i nogle væv er østrogenantagonistisk og i andre østrogenagonistisk (**Tabel 1**).

Tamoxifen har været brugt til behandling af brystcancer i mere end 30 år [3]. I behandlingen udnyttes tamoxifens antagonistiske effekt i receptorpositivt brystvæv [6]. Derimod virker stoffet østrogenagonistisk på knoglevæv. Over for endometriet er virkningen proliferativ. Sidstnævnte kan medføre uønskede virkninger og risici, og blandt andet derfor har der været behov for udvikling af SERM med en anden virkningsprofil [6].

Raloxifen er et nyere SERM, som anvendes i forbindelse med behandling og forebyggelse af osteoporose, hvor stoffets østrogenagonistvirkning på knoglevæv udnyttes. Raloxifen har frakturforebyggende effekt hos kvinder med lavt knoglemineralindhold [7]. Det virker  $E_2$ -antagonistisk i mammae, men er modsat tamoxifen ikke en agonist over for endometriet [8]. Til gengæld har raloxifen ikke de samme positive østrogenagonistiske effekter i hjernen som tamoxifen [2]. Både raloxifen og tamoxifen øger forekomsten af hedeture [8].

Fulvestrant, også kaldet ICI 182.780 (se nedenfor) er en indirekte hæmmer af de cellulære effekter af østrogen og gestagen og er et alternativ til tamoxifen. I modsætning til tamoxifen stimulerer fulvestrant ikke endometriet. Samtidig blokeres imidlertid  $E_2$ 's positive virkninger på knogle-, nerve- og karsystemet. Nogle mammatumorer udvikler resistens over for tamoxifen, mens de fortsat responderer på fulvestrant.

### Interaktion med ER

SERM (raloxifen og tamoxifen) binder i samme polære lomme af ER's LBD som  $E_2$ , men SERMernes sidekæde stikker

Tabel 1. Vævsfordelingen af de to receptorsubtyper samt de omtalte lægemidlers virkningsprofiler.

	Bryst	Knogle	Uterus	Endotel	Cerebrum
Receptorer . . . . .	$\alpha/\beta$	$\alpha/\beta$ (?)	$\alpha/\beta$	$\beta$	(?)
$E_2$ . . . . .	+	+	+	+	+
Tamoxifen . . . . .	-	+	+	+	+
Raloxifen . . . . .	-	+	-	-	-
Fulvestrant <sup>a</sup> . . . . .	-	-	-	-	-

+ Overvejende agonist.

- Overvejende antagonist.

a) Indirekte antagonist over for østrogen- og visse gestageneffekter (se tekst).

ud fra ligandbindingslommen og forskubber positionen af helix 12, så den ikke er placeret over den ligandbindende lomme [9]. Det har betydning for, hvilke kofaktorer SERM-ER-komplekserne kan rekruttere. Konformationsændringen ved ligandbinding har også betydning for, hvilke aktiveringsdomæner receptoren kan virke igennem, og dermed hvilke interaktioner de indgår i med andre transkriptionsfaktorer og DNA. ER har to aktiveringsdomæner, AF-1 og AF-2 [1]. SERM fungerer antagonistisk i alle sammenhænge, hvor aktiveringsdomænet AF-2 kræves. I sammenhænge, hvor receptorens andet aktiveringsdomæne, AF-1, spiller hovedrollen, har tamoxifen delvis agonistisk effekt [10], mens der er usikkerhed om, hvorvidt raloxifen kan stimulere gentranskription gennem AF-1 [3].

### Interaktion mellem SERM-ER-komplekset og DNA

I et humant molekylær biologisk assay udtrykkende et luciferaserapportergen, virker tamoxifen delvist agonistisk via ER- $\alpha$ , mens effekten via ER- $\beta$  er antagonistisk [10]. I den klassiske mekanisme for østrogenvirkning synes ER- $\alpha$  i dette modelsystem at kunne stimuleres både af rene agonister, SERM-præparater og liganduafhængige mekanismer, mens ER- $\beta$  dels kun kan stimuleres til et østrogen respons af rene agonister og dels reducerer den østrogenvirkning, som transmitteres gennem den mere transkriptionelt aktive ER- $\alpha$ -receptor [10].

Ud over at SERM-ER-komplekset kan binde direkte til DNA, kan det også aktivere transkriptionen indirekte via transkriptionsfaktor-komplekserne AP-1 og Sp-1 [8].

### Samspil med kofaktorproteiner

Tabel 1 illustrerer, at vævsspecificiteten af SERM ikke kan forklares alene ved fordelingen af ER-subtyper. Derimod har kofaktorsammensætningen og aktiviteten betydning for, om SERM'erne virker agonistisk eller antagonistisk. SERM'erne kan således både rekruttere koaktivatorer og korepressorer til ER, og den relative ekspresion af disse er for eksempel vist at påvirke tamoxifens evne til at aktivere receptoren [8].

Nogle af koaktivatorerne interagerer med ER, både når E<sub>2</sub> og tamoxifen er ligander. Andre rekrutteres specifikt, når tamoxifen er ligand [8]. Når E<sub>2</sub> er ligand, er koaktivatorer i SRC-familien blandt andet vist at interagere med en del af AF-2 i ER, der ikke synes at være tilgængelig, når tamoxifen er ligand. Andre dele af tamoxifen-ER-komplekset må således i nogle tilfælde være involveret i interaktionen med kofaktorproteinerne [8] (Tabel 2).

### Fulvestrants interaktion med ER

Fulvestrant har som tamoxifen og raloxifen en meget lang sidekæde, som ved binding til ER giver anledning til en markant konformationsændring i receptoren [6, 10].

Konformationsændringen er forskellig fra ændringerne ved binding af både E<sub>2</sub> og SERM og indebærer øget omsæt-

ning og nedsat nuklear transport af ER, foreneligt med en virkning af fulvestrant som nedregulator af ER. Den antiøstrogene virkning af fulvestrant synes at bero på et sekundært tab af ER, som kræver ligandbinding og gentranskription. I nyere undersøgelser har man også påvist antigestagene virkninger af fulvestrant gennem blokade af gestagens evne til at inducere *vascular endothelial growth factor* (VEGF), som er af betydning for angiogenese i maligne tumorer [11].

Den kliniske virkningsprofil for de enkelte ligander for østrogenreceptorerne kan således langtfra forudsiges alene ud fra affiniteten mellem ligand og receptor, men afhænger også af, hvilke konformationsændringer der finder sted i receptoren, i hvilket indbyrdes forhold og i hvilken tilstand de to ER-subtyper er til stede i den pågældende celle, hvilke koaktivatorer og korepressorer der findes i cellen, og i hvilken grad de er aktiveret ved fosforylering eller andre modifikationer. Det er ikke overraskende, at de medikamenter, som i dag er til rådighed, ikke er så vævs- og cellepecifikke, som man kunne ønske.

### Industrielle østrogener

I en række af de produkter, vi omgiver os med til hverdag, findes syntetisk fremstillede stoffer, som mistænkes for at have østrogenlignende effekter. I dyreeksperimentelle studier har man påpeget, at der findes omstændigheder, hvor udsættelse for hormonforstyrrende stoffer i fosterlivet og den tidlige barndom synes at kunne udløse genitale udviklingsanomalier, nedsat fertilitet og testikelcancer [12, 13]. Det skal understreges, at forskellige modelsystemer har givet anledning til modstridende angivelser af den østrogene potens, og at der aktuelt foregår en standardisering af *assays* for hormonforstyrrende effekter [14].

### Bisphenol A

Bisphenol A er et af de mest potente industrielle østrogener. Stoffet findes i mange produkter, da det er den monomer, polykarbonatplastikmaterialer er opbygget af [15]. Mennesker eksponeres for stoffet gennem mad og drikke på dåse samt gennem visse tandfyldninger [16, 17].

### Bisphenol A's binding til ER

I affinitetsforsøg, hvor E<sub>2</sub>'s affinitet for receptorerne sættes til

Tabel 2. Tabellen viser, hvilke receptortyper de to aktiveringsdomæner fungerer i, samt hvordan de omtalte lægemidler påvirker aktiveringsdomænernes funktion

	AF-1	AF-2
Funktionelt i	ER- $\alpha$	ER- $\alpha$ + $\beta$
E <sub>2</sub>	Aktiverer	Aktiverer
Tamoxifen	Aktiverer? Delvist?	Hæmmer
Raloxifen	Aktiverer? Delvist?	Hæmmer
Fulvestrant (ICI)	Aktivering, fulgt af reduktion af receptormængde	Aktivering, fulgt af reduktion af receptormængde

## VIDENSKAB OG PRAKSIS | OVERSIGTSARTIKEL

Det cellulære respons, som udløses af en østrogenreceptor, kan være forskelligt ikke alene i styrke, men også i natur, afhængigt af hvilken ligand der er tale om.

100, er den relative bindingsaffinitet for ER- $\alpha$  fundet at være henholdsvis 0,073 og 0,01, mens den for ER- $\beta$  er henholdsvis 0,75 og 0,01 [18, 19].

### Bisphenol A's rekruttering af kofaktorproteiner

Ligesom ER-E<sub>2</sub>-komplekset kan ER-bisphenol-A-komplekset interagere med koaktivatorer af SRC-familien. Sammenlignet med E<sub>2</sub> er denne interaktion meget svag. Når E<sub>2</sub>'s interaktion med koaktivatorerne sættes til 100, er den relative rekrutteringsevne af SRC-2 < 0,0001 for ER- $\alpha$  og 0,05 for ER- $\beta$  [19]. Rekrutteringen af kofaktorer varierer dog, afhængigt af hvilken DNA-sekvens receptorligandkomplekset er bundet til [20].

### Bisphenol A's stimulering af genekspression

I et forsøg med stimulering af et rapportergen gennem et velkendt østrogenresponselement (ERE) i DNA er den maksimalt opnåede stimulering med bisphenol A omkring 55% af E<sub>2</sub>'s maksimale gennem ER- $\beta$  og cirka 70% af E<sub>2</sub>'s maksimale gennem ER- $\alpha$  [21]. Halvdelen af den maksimale aktivering opnås ved en koncentration på 400 nM bisphenol A gennem ER- $\alpha$ , og 500 nM gennem ER- $\beta$ . Dette kan sammenlignes med henholdsvis 12 nM og 25 nM for E<sub>2</sub> i samme forsøg [21]. Responset afhænger ikke alene af liganden, men også i høj grad af ERE-sekvensen [20]. Det er ikke klart, om Bisphenol A virker gennem andre molekylære mekanismer end E<sub>2</sub>. I in vivo-studier af genekspression i uterus hos rotter regulerer bisphenol A tre af seks undersøgte gener i samme retning som E<sub>2</sub>. To af generne reguleres slet ikke af bisphenol A, og det sidste, som opreguleredes af E<sub>2</sub>, nedreguleredes af bisphenol A [22]. I nyere in vitro-studier af humane brystkræftceller [23] finder man imidlertid opregulering af såvel klassiske som artificielle rapportergener, svarende til hvad der ses for E<sub>2</sub>. Her kræves dog mikromolære bisphenolkoncentrationer for at inducere effekter sammenlignelige med virkningen af E<sub>2</sub> i nanomolære koncentrationer [23].

### Biologisk betydning

Til trods for, at bisphenols A's bindingsaffiniteter er meget små i forhold til E<sub>2</sub>'s, formår stoffet alligevel at aktivere transkription fra ERE-regulerede rapportergener [15]. Dette sker dog kun med en tusindedel af E<sub>2</sub>'s effektivitet, hvilket taler imod, at der skulle kunne udløses en egentlig biologisk effekt [15]. Trods dette er der påvist varig påvirkning af den reproduktive modning og funktion hos mus ved intrauterin udsættelse for, hvad der synes at være miljørelaterede concen-

trationer af bisphenol A [24]. Det er vanskeligt at vurdere den patofysiologiske relevans af dette og andre industrielle østrogen, da der savnes oplysninger om serumkoncentrationer hos mennesket, og risikoen må forventes at være større ved eksponering i fosterlivet og hos børn før puberteten [13, 25].

### Fytoøstrogener

Fytoøstrogener produceres af planter og er ikkesteroider stoffer med østrogenlignende effekter [4]. Nogle epidemiologiske data peger på, at stort indtag af fytoøstrogener i føden kan beskytte mod bryst-, prostata- og coloncancer samt osteoporose [2]. Vi vil her alene omtale et af de mest potente fytoøstrogener, isoflavonet genistein.

Genistein findes i kløver samt i sojabønner [2]. Stoffet binder til både ER- $\alpha$  og ER- $\beta$ , men affiniteten for ER- $\beta$  er klart størst [5]. Selv om genistein har en lav affinitet for ER i sammenligning med E<sub>2</sub>, er stoffet ved høje koncentrationer (10-100 nM) i stand til at inducere et respons, der er sammenligneligt med E<sub>2</sub>'s [15]. Halvdelen af den maksimale aktivitet opnås ved 20 nM gennem ER- $\alpha$  (sammenlignet med 0,005 nM for E<sub>2</sub>), og ved 6 nM gennem ER- $\alpha$  (0,05 nM for E<sub>2</sub>) [15]. Disse data er baseret på den inducerede transkription fra konsensus-ERE-sekvenser indsat i humane, embryonale nyreceller. Sammenholdes resultatet med genisteinmængder i serum op mod mikromolære koncentrationer efter sojarige måltider [26], skulle man forvente biologiske virkninger, der oversteg effekten af endogene østrogen selv hos yngre kvinder. I nyere danske undersøgelser [27] har man i studier af E<sub>2</sub>-afhængig genekspression i humane brystkræftceller påvist, at der kræves en koncentration på 10  $\mu$ M af genistein for at opnå en effekt svarende til effekten af blot 100 pM østradiol. Med dette potensforhold kan kostens indhold af genistein kun forventes at have en mulig biologisk virkning hos postmenopausale kvinder og måske hos mænd. Diskrepansen mellem disse fund understreger igen, at virkningen af en given ligand er en funktion ikke blot af koncentrationen, men også af cellens art og repertoire af koaktivatorer og -repressorer.

### Samspil

Mennesker og dyr udsættes for en blanding af stoffer i føde og omgivelser. Dette er interessant i flere sammenhænge. Ved behandling med SERM eller antiøstrogener vil de eksogene stoffer således forekomme sammen med endogene ligander til ER. Tilsvarende vil industrielle østrogen og fytoøstrogener være til stede sammen med endogene østrogen og farmaka. Det er vist, at en blanding af eksogene østrogen, heriblandt bisphenol A og genistein kan virke additivt [28]. Dette er et komplicerende element i vurderingen af betydningen af industrielle østrogen, hvorfor der må udvikles modeller til at tage højde for den samlede virkning af stoffer, der hver for sig har svage østrogene og antiøstrogene effekter [29]. Dette kompliceres yderligere af, at en binding til ER kan give ophav til en række effekter afhængigt af bindingsaffiniteter for recep-

## VIDENSKAB OG PRAKSIS | OVERSIGTSARTIKEL

torsubtyperne og konformationsændringen i ER. Endelig virker industrielle østrogener også på andre dele af hormonsystemet, blandt andet androgenreceptoren samt steroid hormonsyntese og metabolisme. Sådanne kombinerede effekter kunne resultere i synergistiske effekter in vivo. Mange af stofferne er således i skrivende stund alene undersøgt in vitro, hvilket dog under visse forhold synes at kunne underestimere effekten in vivo. Et eksempel på dette er bisphenol A, som er 1.000-5.000 gange mindre potent end E<sub>2</sub> in vitro, men viser sig at være meget effektivt i stimulering af prolaktinfrigivelse fra hypofysen hos rotter in vivo [15].

**Afsluttende bemærkninger**

Et bedre overblik over østrogenlignende stoffers virkning kræver ideelt set en fuldstændig afdækning af det vævsspecifikke udtryk af både nukleære ER, kofaktorproteiner og eventuelle membranbundne E<sub>2</sub>-receptorer. Herunder er en identificering og komplet karakterisering af kendte og endnu ikke beskrevne receptorer samt kofaktorproteiner påkrævet. Der savnes desuden en klarlægning af, hvor stor en rolle vækstfaktorernes påvirkning af ER samt interaktioner med transkriptionsfaktorer spiller i det samlede østrogenrespons. Derudover må man afdække, hvordan liganderne påvirker andre af E<sub>2</sub>'s signalveje, herunder interaktioner med membranbundne receptorer. Dette vil både give indsigt i, hvilke gener og cellulære respons østrogener kan inducere og øge forståelsen for de specifikke effekter i diverse væv.

En sådan indsigt vil åbne mulighed for selektivt at modulere de enkelte celletypers reaktion på østrogener, hvilket er afgørende for den fortsatte udvikling af medikamenter til behandling af blandt andet maligne sygdomme og osteoporose. Samtidig vil det være med til at afdække betydningen af østrogenlignende stoffer i omgivelserne. Vurderingen af risikoen vanskeliggøres ikke alene af antallet af potentielt hormonforstyrrende stoffer, der mangler at blive undersøgt, men også af modstridende resultater mellem modelsystemer og mangelfulde oplysninger om graden af og tidspunktet for human eksponering, samt kendskab til serum- og vævskoncentrationer.

Korrespondance: Marie Hagen, Nørrebrogade 186, 2. th., DK-2200 København N. E-mail: mariehagen@hotmail.com

Antaget: 23. januar 2004  
Interessekonflikter: Ingen angivet

**Litteratur**

- Hagen M, Hellmers M, Abrahamsen B et al. Østrogeneres molekylære virkemekanismer – basale aspekter. *Ugeskr Læger* 2004;166:1216-20.
- Gruber CJ, Tschugguel W, Schneeberger C et al. Production and actions of estrogens. *New Engl J Med* 2002;346:340-52.
- Lonard DM, Smith CL. Molecular perspectives on selective estrogen receptor modulators (SERMs): progress in understanding their tissue-specific agonist and antagonist actions. *Steroids* 2002;67:15-24.
- Nilsson S, Mäkelä S, Treuter E et al. Mechanisms of estrogen action. *Physiological Reviews* 2001;81:1535-55.
- Harris H, Bapat AR, Gonder DS et al. The ligand binding profiles of estrogen receptors  $\alpha$  and  $\beta$  are species dependent. *Steroids* 2002;67:379-84.
- Howell A, Osborne KC, Morris C et al. ICI 182,780 (Faslodex). *Cancer* 2000;89:817-25.
- Ettinger B, Black DM, Mitlak BH et al. Reduction of vertebral fracture risk in postmenopausal women with osteoporosis treated with raloxifene: results from a 3-year randomized clinical trial. *JAMA* 1999;282:637-45.
- Duterte M, Smith CL. Molecular mechanisms of selective estrogen receptor modulator (SERM) action. *J Pharmacol Experimental Therapeutics* 2000;295:431-7.
- Brzozowski AM, Pike ACW, Dauter Z et al. Molecular basis of estrogen antagonism in the oestrogen receptor. *Nature* 1997;389:753-8.
- Hall JM, McDonnell DP. The estrogen receptor beta-isoform (ERbeta) of the human estrogen receptor modulates ERalpha transcriptional activity and is a key regulator of the cellular response to estrogens and antiestrogens. *Endocrinology* 1999;40:5566-78.
- Hyder SM, Stancel GM. Inhibition of progesterone-induced VEGF production in human breast cancer cells by the pure antiestrogen ICI 182,780. *Cancer Lett* 2002;181:47-53.
- Skakkebaek NE, Rajpert-De Meyts E, Main KM. Testicular dysgenesis syndrome: an increasingly common developmental disorder with environmental aspects. *Hum Reprod* 2001;16:972-8.
- Williams K, McKinnell C, Saunders PTK et al. Neonatal exposure to potent and environmental oestrogens and abnormalities of the male reproductive system in the rat: evidence for importance of the androgen-oestrogen balance and assessment of the relevance to man. *Hum Reprod Update* 2001;7:236-47.
- National Toxicology Program Interagency Center for the Evaluation of Alternative Toxicological Methods (NICEATM), National Institute of Health USA. Expert panel report on the current status of in vitro test methods for detecting endocrine disruptors (2002). <http://iccvam.niehs.nih.gov/> aug. 2003.
- Kuiper GGJM, Lemmen JG, Carlsson Bo et al. Interaction of estrogenic chemicals and phytoestrogens with estrogen receptor beta. *Endocrinol* 1998;139:4252-63.
- Olea N, Pulgar R, Perez P et al. Estrogenicity of resin-based composites and sealants used in dentistry. *Environ Health Perspect* 1996;104:298-305.
- Strunck E, Stemmann N, Hopert AC et al. Relative binding affinity does not predict biological response to xenoestrogens in rat endometrial adenocarcinoma cells. *J Steroid Biochem Molecular Biol* 2000;74:73-81.
- Kushner PJ, Agard DA, Greene GL et al. Estrogen receptor pathways to AP-1. *J Steroid Biochem Molecular Biol* 2000;74:311-7.
- Routledge EJ, White R, Parker MG et al. Differential effects of xenoestrogens on coactivator recruitment by estrogen receptor (ER)alpha and ERbeta. *J Biol Chem* 2000;275:35986-93.
- Hall JM, McDonnell DP, Korach KS. Allosteric regulation of estrogen receptor structure, function and coactivator recruitment by different estrogen response elements. *Molecular Endocrinol* 2002;16:469-86.
- Barkhem T, Carlsson B, Nilsson Y et al. Differential response of estrogen receptor alpha and estrogens receptor beta to partial estrogen agonists/antagonists. *Mol Pharmacol* 1998;54:105-12.
- Diel P, Schulz T, Smolnikar K et al. Ability of xeno- and phytoestrogens to modulate expression of estrogen-sensitive genes in rat uterus: estrogenicity profiles and uterotrophic activity. *J Steroid Biochem Molecular Biol* 2000;73:1-10.
- Rivas A, Lacroix M, Olea-Serrano F et al. Estrogenic effect of a series of bisphenol analogues on gene and protein expression in MCF-7 breast cancer cells. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2002;82:45-53.
- Markey CM, Coombs MA, Sonnenschein C et al. Mammalian development in a changing environment: exposure to endocrine disruptors reveals the developmental plasticity of steroid-hormone target organs. *Evol Dev* 2003;5:67-75.
- Skakkebaek NE, Leffers H, Rajpert-De Meyts ER et al. Should we watch what we eat and drink? Report on the International Workshop on Hormones and Endocrine Disruptors in Food and Water: possible impact on human health, Copenhagen, Denmark, 27-30 May 2000. *Trends Endocrinol Metab* 2000;11:291-3.
- Coward L, Kirk M, Albin N et al. Analysis of plasma isoflavones by reversed-phase HPLC-multiple reaction ion monitoring-mass spectrometry. *Clin Chim Acta* 1996;247:121-42.
- Leffers H, Naesby M, Vendelbo B et al. Oestrogenic potencies of zeranol, oestradiol, diethylstilboestrol, bisphenol-A and genistein: implications for exposure assessment of potential endocrine disruptors. *Hum Reprod* 2001;16:1037-45.
- Silva E, Rajapakse N, Kortenkamp A. Something from "nothing" – eight weak estrogenic chemicals combined at concentrations below NOECs produce significant mixture effects. *Environ Sci Technol* 2002;36:1751-6.
- Diel P. Tissue-specific estrogenic response and molecular mechanisms. *Toxicol Lett* 2002;127:217-24.