



ANSELMUS COLLOQUIUM

HORMONEN OP DE BALANS

een (patho)fysiologische plaatsbepaling van hormoonpreparaten

Samenstellers

KH Hoogendoorn en AMI van Paassen

Anselmus

is de eerste apotheker in de Nederlanden wiens naam op schrift gevonden is. Hij kreeg in 1276 een werkruimte aangeboden van de toenmalige elect (een niet-gewijde bisschop) van Utrecht.

Bron: P van der Wielen. Pharm. Weekbl 71: 715-718 (1934)

De Stichting Organisatie Anselmus Colloquium

stelt zich tot doel het jaarlijks organiseren van een themadag over een farmaceutisch-technologisch onderwerp en dit te belichten vanuit een therapeutische invalshoek.

Het organisatiecomité voor de themadagen bestaat uit:

dr EMG van Bommel	OctoPlus Development BV
dr EJ van Hoogdalem	Johnson & Johnson Pharmaceutical R&D
drs KH Hoogendoorn	OctoPlus Development BV
dr C Oussoren	Universiteit Utrecht
drs AMI van Paassen	Centocor BV
dr JJ Tukker	Pharmedia

Hormonen op de balans

een (patho)fysiologische plaatsbepaling van hormoonpreparaten

Samenstellers: KH Hogendoorn en AMI van Paassen

Houten: Stichting Organisatie Anselmus Colloquium (2004)

Met lit. opg.

ISBN 90-73520-16-9

Niets uit deze uitgave mag worden overgenomen op welke wijze dan ook, zonder voorafgaande toestemming van de auteursrechthouder

Houten, oktober 2004

Hoewel bij het samenstellen van deze proceedings de uiterste zorgvuldigheid is betracht, kan de Stichting Organisatie Anselmus Colloquium geen aansprakelijkheid aanvaarden voor eventuele schade die zou kunnen voortvloeien uit enige drukfout of andere onjuistheid die in deze uitgave kan voorkomen.

INHOUDSOPGAVE

HORMONEN OP DE BALANS: uitdagingen in de endocrinologie prof. dr MA Blankenstein	5
HORMOONTHERAPIE IN DE KINDERENDOCRINOLOGIE dr M Jansen	17
FYSIOLOGIE VAN DE GESLACHTSHORMONEN prof. dr HJT Coelingh Bennink	25
TOEDIENINGSVORMEN VOOR CONTRACEPTIVA dr AP Sam	41
HORMOONTHERAPIE BIJ BORSTKANKER: (k)now the target dr RJAM Michalides	59
TOEDIENINGSVORMEN VOOR HORMONEN BIJ KANKER drs LGW Sterkman	69

PROF. DR MA BLANKENSTEIN



Rien Blankenstein (1950) studeerde chemie aan de Rijkuniversiteit Utrecht. In 1980 promoveerde hij bij Prof. dr HJ van der Molen op het proefschrift 'Oestrogen receptors and prolactin in rat mammary tumour development' aan de Erasmus Universiteit Rotterdam. Ook na de promotie bleef de relatie tussen hormonen en kanker de rode draad vormen van het onderzoek. Tot eind 1981 werd op de afdeling Urologie van de Erasmus Universiteit de

hormonale gevoeligheid van prostaatcancer onderzocht.

Van 1982 tot eind 1984 was hij hoofd van het steroidreceptorlaboratorium van de Dr. Daniël den Hoed kliniek te Rotterdam. Daar begon ook het onderzoek naar de hormonale gevoeligheid van meningeomen. Van oktober 1984 tot oktober 2001 was hij als hoofd van het endocrinologisch laboratorium en later plaatsvervangend hoofd van het Centraal Diagnostisch Laboratorium werkzaam bij de faculteit geneeskunde van de Universiteit Utrecht en het Academisch Ziekenhuis Utrecht, het latere UMC. Hier werd het onderzoek aan meningeomen voortgezet en alsmede het al lopende onderzoek naar de rol van lokale oestrogensynthese bij mammacarcinoom. In 1996 werd hij ingeschreven in het register van erkend klinisch chemici van de Nederlandse Vereniging van Klinische Chemie en Laboratoriumgeneeskunde (NVKC). Per september 2001 werd hij benoemd tot hoogleraar klinische chemie aan de Vrije Universiteit te Amsterdam. Sinds januari 2002 is hij ook hoofd van de afdeling klinische chemie van het VU Medisch Centrum.

ma.blankenstein@vumc.nl

MA Blankenstein

In het huidige Olympisch jaar zijn hormonen traditiegetrouw weer in een kwaad daglicht gekomen. Zodra er in sportief verband, maar ook in de veehouderij, over 'hormonen' gesproken wordt, gaat het feitelijk over 'stoffen met hormonale werking'. Wellicht voor sommigen slechts een subtiel verschil, maar toch. De klassieke definitie van hormonen spreekt van stoffen die in een cel gemaakt worden, vervolgens uitgescheiden worden, en elders in het lichaam, dus op afstand, hun effect bewerkstelligen. De doelwitorganen beschikken daartoe over receptoren die het effect mediëren, hetzij via nucleaire signalen (steroïden), hetzij via transmembraan-effecten (eiwithormonen). Hoewel de definitie van hormonen de laatste decennia dus aanzienlijk ruimer is geworden, en hormonen hun effecten niet alleen endocrien, dit wil zeggen via de bloedbaan maar ook *paracrien* (via secretie op naburige cellen), *juxtacrien* (zonder secretie direct op naburige cellen) en zelfs *intracrien* (zonder excretie binnen dezelfde cel) kunnen uitoefenen lijkt het zinvol de term hormoon niet te gebruiken voor synthetische stoffen met hormonale werking.

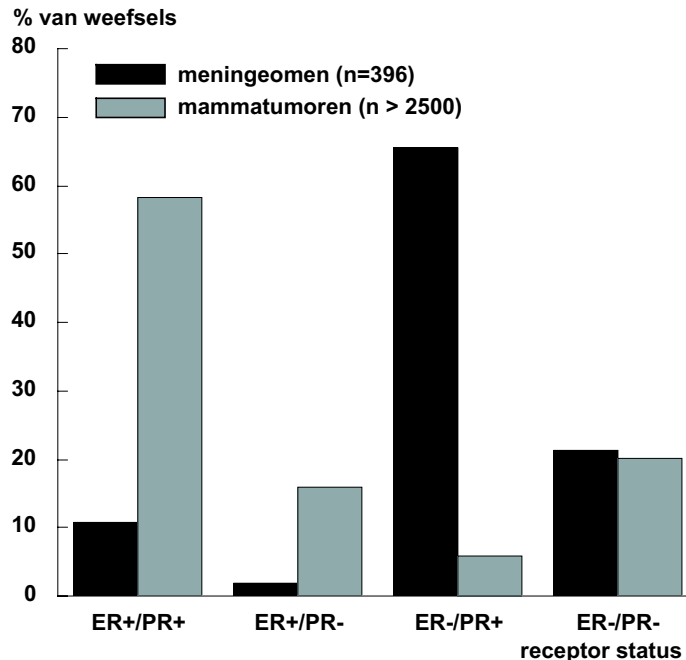
De kennis over de hormoonhuishouding en de regulatiemechanismen die daar een rol bij spelen heeft uiteraard gelijke tred gehouden met, en is geïnspireerd door technologische ontwikkelingen. Aanvankelijk was er uiteraard veel belangstelling voor het isoleren van het actief principe uit werkzame preparaten, en later kwamen andere aspecten meer en meer in de belangstelling: het ontrafelen van de biosynthese van de hormonen, het metabolisme, de methoden ter bepaling van hun concentratie en/of activiteit en het ontrafelen van het mechanisme waarlangs hormonen hun werking uitoefenen. Ontrafeling van het werkingsmechanisme van hormonen opent vanzelfsprekend de mogelijkheid tot interferentie met het doeldeficiënties van het hormoon te verhelpen (groeihormoon, thyroxine, cortisol), dan wel ongewenste activiteit te beteugelen (tamoxifen, cyproteronacetaat, flutamide) of bovenmatige activiteit te induceren (anabolica). Met name anabolica worden in de lekenpers vaak ten onrechte hormonen genoemd. Het is karakteristiek voor de werking van hormonen dat de effecten bij verhoudingsgewijs lage concentraties kunnen worden bereikt.

Uitdagingen in de endocrinologie worden aan de hand van twee voorbeelden geïllustreerd: de speurtocht naar een mogelijke hormonale behandeling van meningeoom en de autonome hormoonsynthese door borstkankerweefsel.

MENINGEOMEN ALS HORMOONGEVOELIGE TUMOREN

Meningeomen zijn goedaardige tumoren van de hersenvliezen, en het is al in het begin van de vorige eeuw gedocumenteerd dat zij mogelijk onder hormonale invloed staan. Symptomen, waaronder het verlies van het gezichtsvermogen, verergeren reversibel tijdens zwangerschap, zoals in 1932 reeds door Cushing is beschreven. Andere indicaties dat meningeomen mogelijk hormoongevoelig zijn, kwamen uit de epidemiologie: meningeomen komen vaker voor bij vrouwen dan bij mannen en de symptomen verergeren in de tweede helft van de menstruele cyclus. Ten slotte is er ook een associatie van meningeoom met het mammacarcinoom beschreven, die recent nog eens is bevestigd (Lieu *et al*, 2003). Al met al duidelijke aanwijzingen dat vrouwelijke geslachtshormonen een rol spelen in de etiologie van het meningeoom. Deze aanwijzingen, gevoegd bij een publicatie die beschreef dat meningeomen oestrogeenreceptoren (ER) zouden bevatten (Donnell *et al*, 1979), hebben aanleiding gegeven tot een groot aantal onderzoeken naar de mogelijkheid deze tumoren hormonaal te beïnvloeden. De primaire behandeling van meningeoom is chirurgisch, echter een aantal tumoren recidiveert, en is uiteindelijk inoperabel. Ontwikkeling van een (anti-)hormonale behandeling vooral voor de niet of niet-volledig operatief behandelbare tumoren werd als één van de belangrijkste uitdagingen gezien. Spoedig echter werd duidelijk dat de waarneming van oestrogeenreceptoren door Donnell was gebaseerd op een inadequate bepalingstechniek en niet reproduceerbaar was (Blankenstein *et al*, 1983). Er bleken in meningeomen namelijk wel veel progesteronreceptoren (PR) aanwezig te zijn (zie figuur 1). De daarbij gevonden concentraties PR bleken vergelijkbaar met die in mammacarcinomen, terwijl de concentratie ER in de meeste gevallen beneden de detectielimiet bleek te zijn.

Volgens de toenmalige opvattingen was dat een uiterst controversiële bevinding. Immers, progesteronreceptoren werden geacht uitsluitend via de werking van de oestrogeenreceptor tot expressie te worden gebracht. Waar in mammatumoren de aanwezigheid van PR gezien wordt als een aanwijzing dat het werkingsmechanisme van oestrogenen intact is, prevaleert in meningeomen kennelijk een ander mechanisme, onafhankelijk van ER, waarlangs PR kan worden gesynthetiseerd.



Figuur 1. Voorkómen van oestrogeen- (ER) en progestageenreceptoren (PR) in humane meningeomen en mammacarcinomen. Bepalingen zijn uitgevoerd middels Scatchard-analyse van bindingsgegevens bij meerdere concentraties radioactief ligand (oestradiol voor ER; R-5020 voor PR). Voor de classificatie positief is een concentratie van 10 fmol/mg cytosoleiwit aangehouden.

Het onderzoek splitste zich daarna in twee richtingen. Enerzijds werd onderzocht of anti-progestagenen de groei van meningeomen konden remmen, anderzijds werd gezocht naar het mechanisme waarlangs de PR synthese tot stand komt. Voor beide onderzoekslijnen was het essentieel aan te tonen dat de PR in meningeomen biochemisch intact is, met andere woorden dat progestagenen via deze PR de groei van meningeoomcellen bevorderen. *In vitro* was dit niet gelukt (Blankenstein *et al*, 2000), totdat zeer recent werd gesuggereerd dat *in vivo* een effect wel aantoonbaar zou zijn (Gruber *et al*, 2004). Ondanks bemoedigende publicaties (Haak *et al*, 1990; Grunberg *et al*, 1991; Lamberts *et al*, 1992) en de hoop die op grond daarvan in reviews werd geuit (Sitruk-Ware, 1999) is de behandeling van meningeomen met antiprogestagenen toch niet van de grond gekomen. De resultaten van de grote multicentrische studie die deze behandeling op de kaart had moeten zetten, zijn niet gepubliceerd omdat statistische significantie nipt gemist werd (Sitruk-Ware, persoonlijke mededeling). Het recente initiatief van de redacteurs van toonaangevende medische tijdschriften om alleen resultaten van diè onderzoeken te publiceren die voor aanvang in een openbaar register zijn opgenomen (De Angelis *et al*, 2004), komt wat deze studie betreft helaas te laat.

Het biochemisch onderzoek ging verder, en zoals gebruikelijk bleek het plaatje gecompliceerder dan aanvankelijk gedacht. Met meer verfijnde technieken konden we later niet alleen aantonen dat meningeomen toch wél oestrogeenreceptoren bevatten, zij het in een lage concentratie, dat naast de klassieke oestrogeenreceptor- α ook de oestrogeenreceptor- β tot expressie kwam en dat naast de intacte receptoren ook diverse mutanten van beide receptoren aantoonbaar waren. De progesteronreceptor bleek in minstens drie isovormen voor te komen (Verheijen *et al*, 2001).

De puzzel hebben wij helaas niet helemaal kunnen oplossen, mede door de geringe incidentie van de tumoren en het ontbreken van een geschikt modelsysteem. Uit deze onderzoekslijn is echter wel duidelijk geworden dat behandeling met antiprogestagenen in een aantal gevallen tot stabilisatie van tumorgroei, en zelfs tot verkleining van de tumor kan leiden. Studies naar het effect van behandeling met antiprogestagenen in relatie tot de mate van expressie van de progesteronreceptor zijn nog gaande (Wolfsberger *et al*, 2004). Expressie van co-activatoren en co-repressoren van de steröidreceptor in relatie tot die van PR (Carroll *et al*, 2002) en biosynthese van progesteron lokaal in de hersenen (Inoue *et al*, 2002), verdienen zeker verder onderzoek.

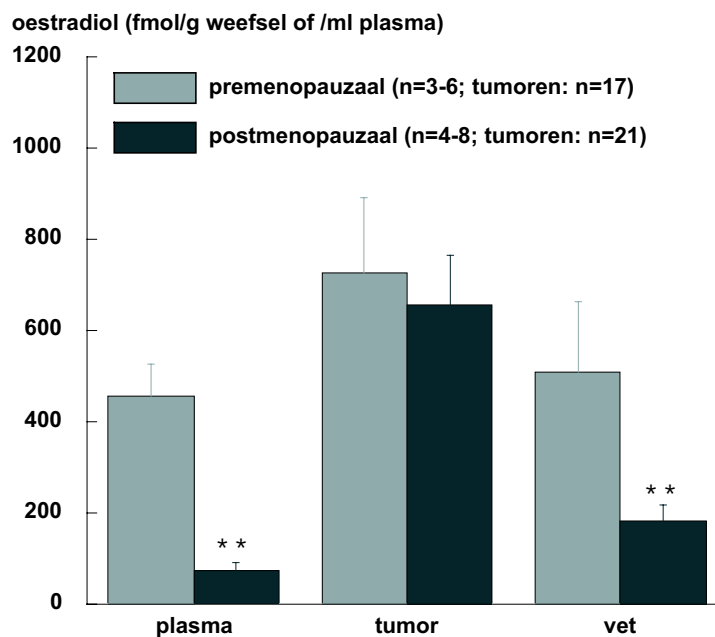
DE BORSTKLIER ALS ENDOCRIEN ORGAAN

Een tweede endocrinologische uitdaging waaraan ik heb mogen werken betreft de vraag welke rol oestrogenen nu precies spelen bij het ontstaan en de groei van mammatumoren. Dat aanwezigheid van oestrogeenreceptoren in borsttumoren een voorspellende waarde voor het resultaat van antihormonale behandeling heeft, was reeds bekend. Wat minder bekend was, was hoe de oestrogenen hun stimulerende werking op de groei van de tumoren uitoefenen, en nog minder waar ze precies vandaan kwamen. Wellicht de belangrijkste waarneming uit die studie is dat tumorweefsel in staat is zelf oestrogenen te synthetiseren. Terwijl na de menopauze de concentratie van oestrogenen in de circulatie daalt tot minder dan 10% van de waarde vóór de menopauze, is daarvan in de tumor niets te merken (zie figuur 2). De lokale oestradiolspiegel in tumoren van postmenopauzale vrouwen is nagenoeg even hoog als die in tumoren van premenopauzale vrouwen. Deze waarneming, gelukkig door meerdere laboratoria bevestigd, heeft de tumor als endocrien orgaan op de kaart gezet. Markant is dat een dergelijke autonome oestrogeensynthese alleen voorkomt in het tumorweefsel, en niet in het niet-maligne borstweefsel en het omringende vetweefsel.

Borsttumoren bleken over alle voor de biosynthese van oestrogenen benodigde enzymen te beschikken. De door aromatase gekatalyseerde omzetting van androgenen (testosteron en androsteendion) in oestrogenen (oestradiol resp. oestron) is niet alleen irreversibel, maar is tevens de snelheidsbepalende stap hierin.

Daarom is de mogelijkheid uitgebreid onderzocht om tumorgroei te beïnvloeden via remming van de aromatase-activiteit. Het onderzoek omvatte het aantonen van de effectiviteit van aromataseremmers op de perifere conversie van androgenen in oestrogenen (van der Wall *et al*, 1993) en het aantonen van de effectiviteit van de aromataseremmers, niet alleen op de aromataseactiviteit in de tumorweefsel, maar ook op de weefselspiegel van de oestrogenen (de Jong *et al*, 1997).

Ondanks de superieure eigenschappen van de nieuwe generatie aromataseremmers en positieve berichten over zowel de tolerantie als de effectiviteit (Paridaens *et al*, 1998) is het uiteindelijke succes van de aromataseremmers beneden verwachting gebleven. Mogelijk dat nieuwe coumarine-aromataseremmers (Chen *et al*, 2004) in de toekomst effectiever blijken. Ook het ontbreken van kruisresistentie tussen aromataseremmers met verschillend werkingsmechanisme (steroïdaal vs. niet-steroïdaal) in de behandeling van gemetastaseerd mammacarcinoom biedt nog perspectief (Lonning, 2004). Naast oestrogenen maken borsttumoren ook groeihormoon (Mol *et al*, 1995), hetgeen mogelijk lokaal tot een verhoogde IGF-1-productie zou kunnen leiden en daarmee tot een extra stimulans voor de groei van de tumor.



Figuur 2. Concentraties van oestradiol in plasma, borsttumorweefsel en vetweefsel bij pre- en postmenopauzale vrouwen. Het tumorweefsel is 'resistent' tegen de met de menopauze gepaard gaande daling van de oestrogeenconcentratie in de circulatie. Het vetweefsel volgt de plasmaspiegel wel. De ** geven een significante daling van de oestradiolspiegel aan (naar: Blankenstein MA *et al*. T Kanker 1999; 23: 30-33).

Ook andere tumoren blijken eigenschappen te hebben waarbij de lokale aanmaak en afbraak van hormonen belangrijker is dan de perifere, en ook in de hoek van diabetes is de lokale aanmaak van hormonen recent in de schijnwerpers geplaatst. Corticosteroïden kunnen lokaal in vetweefsel worden gemaakt door de activiteit van het 11 β -hydroxysteroiddehydrogenase en zo bijdragen aan de ontwikkeling van centrale obesitas en het metabool syndroom (Masuzaki *et al*, 2001). Dit hypercorticisme lokaal in het vetweefsel was in de circulatie niet te meten. Als lokale biochemische veranderingen niet in de perifere circulatie gemeten kunnen worden, dan zal naar alternatieve wegen gezocht moeten worden. Vooralnog is meting in de betreffende weefsels de enige mogelijkheid. Mogelijk dat nanotechnologie en/of toepassing van biosensoren hierin uitkomst kan brengen.

‘NIEUWE’ HORMONEN

In het voorgaande is de rol van vetweefsel in de biosynthese van steroïden belicht. Vetweefsel blijkt echter niet alleen actief in de steroïdbiosynthese, maar ook andere hormonen worden in vetweefsel geproduceerd. Vetweefsel veroverd zich daarmee een vaste plaats als endocrien orgaan. De passieve rol van vetweefsel als vetopslagplaats komt in de schaduw van de actieve rol in de synthese van relatief nieuw ontdekte hormonen. Tot de hormonen waarvan het vetweefsel de bron is, behoren leptine, adiponectine, en resistine. Leptine reguleert de voedselopname en energiebalans van het lichaam, voor adiponectine wordt een rol in het voorkomen van atherosclerose en leverfibrose en als ontstekingsremmer beschreven. Resistine tenslotte zou insulineresistentie in de hand werken en zo een link vormen tussen obesitas en type-2-diabetes (Meier en Gressner, 2004).

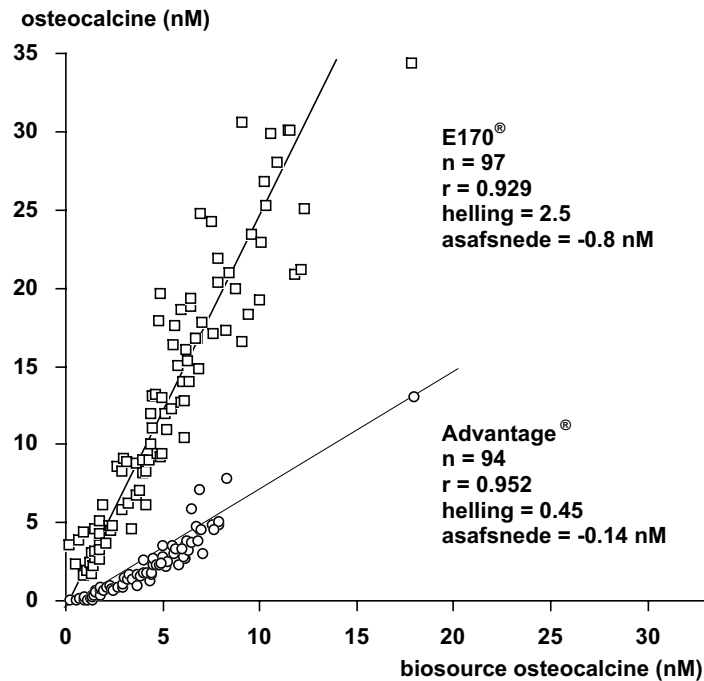
Ghreline, naast gastrine een product van de maag, is betrokken bij korte termijn regulatie van voedselopname en lange termijn energie huishouding, maar ook op tal van andere processen (Korbonits *et al*, 2004). Ook voor het al meer dan 75 jaar bekende relaxine worden tal van nieuwe functies beschreven (Baccari en Calamai, 2004).

HORMOONBEPALINGEN

De toegenomen belangstelling voor ‘nieuwe’ hormonen en oude hormonen waaraan nieuwe functies worden toegeschreven, komt ook tot uiting in een toegenomen vraag naar bepalingen ervan. Hormoonconcentraties zijn decaden lager dan die van een aantal andere lichaamseigen stoffen, hetgeen uiteraard hoge eisen stelt aan de bepalingsmethodes van hormoonspiegels in lichaamsvloeistoffen. Bepaling van hormoonspiegels vindt tegenwoordig voornamelijk via immunoassays plaats. Daarnaast wordt ook gebruik gemaakt van cellen met getransfecteerde receptoren gekoppeld aan reporter genen om biologische activiteit

te bepalen (Vermeer *et al*, 2003). Dat hiermee eerder een totale biologische activiteit bepaald wordt dan afzonderlijke hormonen laat zich raden. In sommige klinische omstandigheden evenals in de milieukunde (Pawlowski *et al*, 2003) zal men daarin echter meer geïnteresseerd kunnen zijn. Aantonen van biologische activiteit gaat dan vooraf aan de analyse van de stof(fen) die voor deze activiteit verantwoordelijk zijn.

Zoals reeds gezegd zijn de immunologische bepalingen ook nog zeer populair, en zij zijn dan ook goed gestandaardiseerd. In Nederland houdt de sectie Endocrinologie (voorheen LWBA) van de SKML, de Stichting Kwaliteitsbewaking Medische Laboratoria, zich bezig met de kwaliteitscontrole van hormoonbepalingen. Het ligt voor de hand dat bepalingen die in grote aantallen plaatsvinden, het best gestandaardiseerd zijn, en in grote lijnen klopt dit ook wel. Bepalingen van cortisol en TSH bijvoorbeeld, die door meer dan 100 laboratoria in Nederland worden uitgevoerd kennen een variatiecoëfficiënt van rond de 10%. Minder populaire assays vertonen aanzienlijk grotere variatie tussen de diverse laboratoria. Zo wordt de bepaling van 17-hydroxyprogesteron door minder dan 20 laboratoria verricht, en is de variatie daarbij ruim 25%. Dit is nagenoeg geheel te wijten aan het gebruik van verschillende methoden en standaarden. Voor bepalingen die door nog minder laboratoria worden uitgevoerd is geen externe kwaliteitsbewaking voorhanden en daarbij dient het laboratorium zelf een koers uit te zetten om de aanvrager betrouwbare resultaten te kunnen leveren. Een van de grootste problemen daarbij is het ontbreken van goede referentiepreparaten, zoals het voorbeeld in figuur 3 laat zien. De osteocalcineconcentratie in een aantal monsters werd op twee analyzers met kant en klare reagentiasets (E170[®] van Roche, en Advantage[®] van Nichols) bepaald. De resultaten zijn in figuur 3 weergegeven als de osteocalcineconcentratie gemeten met de E170- respectievelijk de Advantage-bepaling tegen de concentratie gemeten met een manuele immunoradiometrische bepaling (Biosource[®]). De resultaten in figuur 3 tonen dat er weliswaar lineaire concentratie-responsrelaties te zien zijn bij beide bepalingen, maar dat de hellingshoeken dermate verschillen dat het bepalen van de werkelijke osteocalcineconcentratie een hachelijke onderneming is, en feitelijk onmogelijk wordt. Ook voor andere nieuwere bepalingen worden regelmatig problemen gerapporteerd. De resultaten van een relaxinebepaling bij een aantal mannen en postmenopauzale vrouwen, die volgens de informatie van de leverancier erg laag dienden te zijn, bleken in werkelijkheid in de range van zwangeren te komen. De specificiteit van de bepaling komt daarmee uiteraard in het geding.



Figuur 3. Osteocalcine in serum bepaald met twee commerciële verkrijgbare automatische bepalingen (E170 resp. Advantage), afgezet tegen de concentraties bepaald met een eveneens commerciële verkrijgbare manuele bepaling (Biosource). Het ontbreken van een internationaal erkend referentiepreparaat maakt het onmogelijk de juiste osteocalcineconcentratie in de monsters vast te stellen. Het lineair verband in de beide datasets maakt het aannemelijk dat de bepalingen wel hetzelfde meten, maar dat de standaardisatie van drie reagentiasets verschilt.

Intracriene werkende hormonen en cofactoren komen per definitie niet in de circulatie en zijn daarom ook niet meetbaar in plasma. Om toch informatie over de intracriene processen te kunnen verkrijgen, is dus een onconventionele benadering noodzakelijk. Hoewel een kant en klare oplossing nog niet voorhanden is, zijn er boeiende ontwikkelingen die laten zien dat met moleculair-biologische technieken RNA in plasma te detecteren is, zelfs voor intracellulaire placentaire transcriptiefactoren (Go *et al*, 2004). Zo kunnen afwijkingen in signaaltransductie mechanismen al prenataal worden opgespoord.

TOT SLOT

In de thans wel als klassiek te bestempelen endocrinologie werd gebruik gemaakt van verwijdering van organen, gevolgd door toediening van extracten daarvan, om de hormoonproductie van het betreffende orgaan aan te tonen. In 1922 leverden

Banting en Best op deze wijze het bewijs dat de pancreas insuline maakt, en castratie-experimenten toonden onomstotelijk aan dat in de testis androgenen gemaakt worden. Ablatietechnieken (ablatie: 'wegnemen van een orgaan') worden ook nu weer op grote schaal gebruikt om de details van de vele regulatieprocessen in de cel te ontrafelen, zij het dat de ablatie nu niet meer op orgaan- maar op moleculair niveau plaats vindt. Daarnaast zijn er ook mogelijkheden om genen tot verhoogde expressie te brengen. De Endocrine Society heeft bibliografiën vervaardigd van het gebruik van transgene en knock-out dieren in het onderzoek naar nucleaire receptoren, G-eiwitten en aan G-eiwitten gekoppelde receptoren, calciumsignaaltransductiemechanismen en proteïnekinase A (<http://www.endo-society.org/journals/bibliographies.cfm>).

Ook de ontdekking van RNAi (RNA interference) als regulatiemechanisme betekent een grote stap voorwaarts, en tegelijk natuurlijk ook een grote uitdaging. Selectieve remming van mRNA's door RNAi zal verder inzicht brengen in werkingsmechnismen en tot nieuwe therapeutische mogelijkheden leiden (Scherer en Rossi, 2004). Grensvlakken tussen verschillende disciplines zullen daar vermoedelijk niet tegen bestand zijn.

REFERENTIES

Baccari MC, Calamai F. Relaxin: new functions for an old peptide. *Curr Protein Pept Sci* 2004; 5: 9-18.

Blankenstein MA, Blaauw G, Lamberts SW, Mulder E. Presence of progesterone receptors and absence of oestrogen receptors in human intracranial meningioma cytosols. *Eur J Cancer Clin Oncol* 1983; 19: 365-370.

Blankenstein MA, Verheijen FM, Jacobs JM, Donker TH, van Duijnhoven MW, Thijssen JHH. Occurrence, regulation, and significance of progesterone receptors in human meningioma. *Steroids* 2000; 65: 795-800.

Carroll RS, Brown M, Zhang J, DiRenzo J, De Mora JF, Black PM. Expression of a subset of steroid receptor cofactors is associated with progesterone receptor expression in meningiomas. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 3570-3575.

Chen S, Cho M, Karlsberg K, Zhou D, Yuan YC. Biochemical and biological characterization of a novel anti-aromatase coumarin derivative. *J Biol Chem* 2004 Sep 8 [Epub ahead of print]

De Angelis C, Drazen JM, Frizelle FA, Haug C, Hoey J, Horton R, Kotzin S, Laine C, Marusic A, Overbeke AJ, Schroeder TV, Sox HC, Van Der Weyden MB; International Committee of Medical Journal Editors. Clinical trial registration: a statement from the International Committee of Medical Journal Editors. *Lancet* 2004; 364 : 911-912.

de Jong PC, van de Ven J, Nortier HW, Maitimu-Smeele I, Donker TH, Thijssen JH, Slee PH, Blankenstein MA. Inhibition of breast cancer tissue aromatase activity and estrogen concentrations by the third-generation aromatase inhibitor vorozole. *Cancer Res* 1997; 57: 2109-2111.

Donnell MS, Meyer GA, Donegan WL. Estrogen-receptor protein in intracranial meningiomas. *J Neurosurg* 1979; 50: 499-502.

Go AT, Visser A, Mulders MA, Blankenstein MA, Van Vugt JM, Oudejans CB. Detection of placental transcription factor mRNA in maternal plasma. *Clin Chem* 2004; 50: 1413-1414.

Gruber T, Dare AO, Balos LL, Lele S, Fenstermaker RA. Multiple meningiomas arising during long-term therapy with the progesterone agonist megestrol acetate. Case report. *J Neurosurg* 2004; 100: 328-31.

Grunberg SM, Weiss MH, Spitz IM, Ahmadi J, Sadun A, Russell CA, Lucci L, Stevenson LL. Treatment of unresectable meningiomas with the antiprogestosterone agent mifepristone. *J Neurosurg* 1991; 74: 861-866.

Haak HR, de Keizer RJ, Hagenouw-Taal JC, van Seters AP, Vielvoye GJ, van Dulken H. Successful mifepristone treatment of recurrent, inoperable meningioma. *Lancet* 1990; 336 : 124-125.

Inoue T, Akahira J, Suzuki T, Darnel AD, Kaneko C, Takahashi K, Hatori M, Shirane R, Kumabe T, Kurokawa Y, Satomi S, Sasano H. Progesterone production and actions in the human central nervous system and neurogenic tumors. *J Clin Endocrinol Metab* 2002 ; 87: 5325-5331.

Korbonits M, Goldstone AP, Gueorguiev M, Grossman AB. Ghrelin-a hormone with multiple functions. *Neuroendocrinol* 2004; 25: 27-68.

Lamberts SW, Tanghe HL, Avezaat CJ, Braakman R, Wijngaarde R, Koper JW, de Jong FH. Mifepristone (RU 486) treatment of meningiomas. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1992; 55: 486-490.

Lieu AS, Hwang SL, Howng SL. Intracranial meningioma and breast cancer. *J Clin Neurosci* 2003; 10: 553-556.

Lonning PE. Aromatase inhibitors in breast cancer. *Endocr Relat Cancer* 2004; 11: 179-89.

Masuzaki H, Paterson J, Shinyama H, Morton NM, Mullins JL, Seckl JR, Flier JS. A transgenic model of visceral obesity and the metabolic syndrome. *Science* 2001; 294: 2166-2170.

Meier U, Gressner AM. Endocrine regulation of energy metabolism: review of pathobiochemical and clinical chemical aspects of leptin, ghrelin, adiponectin, and resistin. *Clin Chem* 2004;50: 1511-1525.

Mol JA, Henzen-Logmans SC, Hageman P, Misdorp W, Blankenstein MA, Rijnberk A. Expression of the gene encoding growth hormone in the human mammary gland. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; 80: 3094-3096.

Paridaens R, Roy JA, Nooij M, Klijn J, Houston SJ, Beex LV, Vinholes J, Tomiak E, Van Vreckem A, Langenaeken C, Van Glabbeke M, Piccart MJ. Vorozole (Rivizor): an active and well tolerated new aromatase inhibitor for the treatment of advanced breast cancer patients with prior tamoxifen exposure. Investigational Drug Branch of the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC) Breast Cancer Cooperative Group. *Anticancer Drugs* 1998; 9: 29-35.

Pawlowski S, Ternes T, Bonerz M, Kluczka T, van der Burg B, Nau H, Erdinger L, Braunbeck T. Combined in situ and in vitro assessment of the estrogenic activity of sewage and surface water samples. *Toxicol Sci* 2003; 75: 57-65.

Scherer L, Rossi JJ. Recent applications of RNAi in mammalian systems. *Curr Pharm Biotechnol* 2004; 5: 355-360.

Sitruk-Ware R. Anti-progesterones. *Presse Med* 1999; 28: 2123-2131.


van der Wall E, Donker TH, de Frankrijker E, Nortier HW, Thijssen JH, Blankenstein MA. Inhibition of the in vivo conversion of androstenedione to estrone by the aromatase

inhibitor vorozole in healthy postmenopausal women. *Cancer Res* 1993; 53: 4563-4566.

Verheijen FM, Sprong M, Jacobs HM, Donker GH, Amelink GJ, Thijssen JH, Blankenstein MA. Progesterone receptor isoform expression in human meningiomas. *Eur J Cancer* 2001; 37: 1488-1495.

Vermeer H, Hendriks-Stegeman BI, van den Brink CE, van der Saag PT, van der Burg B, van Buul-Offers SC, Jansen M. A novel specific bioassay for the determination of glucocorticoid bioavailability in human serum. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2003; 59: 49-55.

Wolfsberger S, Doostkam S, Boecher-Schwarz HG, Roessler K, Van Trotsenburg M, Hainfellner JA, Knosp E. Progesterone-receptor index in meningiomas: correlation with clinico-pathological parameters and review of the literature. *Neurosurg Rev* 2004; 27: 238-245.



DR M JANSEN

Maarten Jansen (1947) studeerde Geneeskunde aan de Universiteit van Groningen. Zijn opleiding tot kinderarts volgde hij in het Catharina Ziekenhuis te Eindhoven en het Wilhelmina Kinderziekenhuis Utrecht. Vervolgens specialiseerde hij zich in de kinderendocrinologie, eveneens in het Wilhelmina Kinderziekenhuis (prof. dr JL van den Brande). Gedurende een onderzoeksjaar in Boston, USA, werd de basis gelegd voor het onderzoek waarop hij in 1987 cum laude promoveerde met het proefschrift 'The human somatomedins: structure and expression of messenger RNAs'. Sinds 1995 is hij hoofd van de subafdeling kinderendocrinologie, Divisie Kinderen, Universitair Medisch Centrum Utrecht. Zijn onderzoeksbelangstelling ligt op het gebied van groeistoornissen, werkingsmechanismen van hormonen en stoornissen in de calcium- en botstofwisseling.

HORMOONTHERAPIE IN DE KINDERENDOCRINOLOGIE

M Jansen

Behandeling van kinderen met hormonen roept bij de ouders vaak terughoudendheid of zelfs weerstand op. Dat is niet verwonderlijk, want nogal wat hormonen staan in een kwade reuk. Zo roept alleen al het woord ‘prednison’ visioenen op van kinderen met bolle toeten en groeiachterstand, komen ‘groeihormonen’¹⁾ nog steeds op diverse manieren negatief in het nieuws (sport, bio-industrie) en kennen velen schildklierhormoon vooral als middel om af te vallen. Dit alles heeft echter weinig met kinderendocrinologie te maken. Veel van de behandelingen die kinderendocrinologen geven dienen als substitutie van hormonale deficiënties, maar soms moet een ongewenste hormonale activiteit de kop ingedrukt worden (tabel 1).

Tabel 1. Enkele ‘geheide’ indicaties voor hormonale behandeling in de kinderendocrinologie en de daarbij gebruikte hormonen.

indicatie	hormoon
GH-deficiëntie	groeihormoon
(congenitale) hypothyreoïdie	thyroxine
hypocortisolisme	glucocorticoïden
centrale pubertas praecox	GnRH-analoga
hypogonadisme	geslachtshormonen
type I-diabetes mellitus	insuline, glucagon

Het nut van dergelijke behandelingen, mits op de juiste indicatie gegeven, zal door niemand ontkend worden. Maar er is wel degelijk sprake van een grijs gebied: hoewel bijvoorbeeld groeihormoonbehandeling van meisjes met het syndroom van Turner²⁾ in Nederland een geaccepteerde indicatie is, is het *medisch* nut daarvan ver te zoeken. Hetzelfde geldt voor de nieuwe indicatie voor groeihormoonbehandeling die eraan zit te komen: de behandeling van kinderen die intra-uterien een groeiachterstand hebben opgelopen en die niet hebben ingehaald. Hoe moeten we het – vastgestelde – gunstige kortetermijn effect op de lengtegroei afwegen tegen mogelijk ongunstige langetermijn effecten als die nog grotendeels

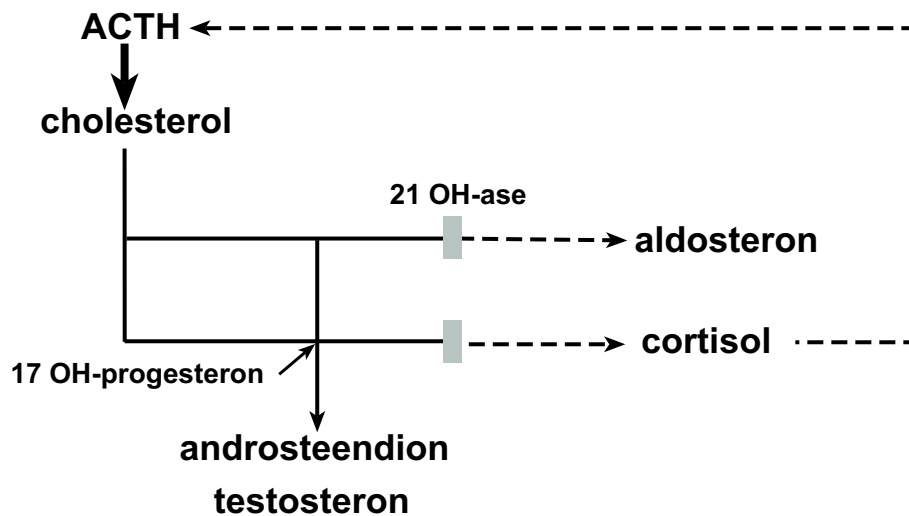
¹⁾ De term ‘groeihormonen’ roept nogal eens verwarring op. Onder ‘groeihormoon’ verstaan endocrinologen het hypofysaire groeihormoonmolecuul. In de lekenpers worden onder ‘groeihormonen’ vaak ook geslachtshormonen en allerlei steroïden en verwante verbindingen met anabole werking verstaan.

²⁾ Het syndroom van Turner berust op een monosomie X (karyotype in typische gevallen 45,XO) en wordt gekenmerkt door een kleine lichaamslengte, meestal een ovariële insufficiëntie, en een variabel aantal uitwendig zichtbare kenmerken zoals huidplooiën ter weerszijden van de nek, een brede thorax en een hoekstand tussen boven- en onderarm. Soms bestaan er ook afwijkingen aan hartkleppen, aorta en nieren.

onbekend zijn? Goed beschouwd speelt een behoorlijk deel van ons vak zich af in deze schemerzone: te klein, te lang, te dik, te dun, te vroeg, te laat – de grens tussen medische noodzaak en wat wel genoemd wordt ‘cosmetische endocrinologie’ is meermalen uiterst vaag. Anderzijds staat soms de medische noodzaak van een behandeling vast maar zitten er nogal wat haken en ogen aan de uitvoering ervan, of brengt de aard van de aandoening in kwestie ons op vrijwel onbekend terrein. In deze lezing worden dit soort aspecten van ons vak besproken aan de hand van een drietal voorbeelden.

ADRENOGENITAAL SYNDROOM

De medische noodzaak van behandeling van kinderen met een klassiek adrenogenitaal syndroom (AGS) staat niet ter discussie - over de manier waarop die behandeling wordt gegeven zijn de boeken echter nog niet gesloten. Het principe van de behandeling is simpel en valt direct af te leiden uit de pathogenese van dit syndroom (figuur 1).



Figuur 1. Pathogenese van het adrenogenitaal syndroom (AGS). Basisdefect van het AGS is een stoornis in de synthese van cortisol, meestal door een mutatie van het enzym 21-hydroxylase (21-OH-ase). Door de verminderde cortisolfeedback neemt de secretie van ACTH uit de hypofysevoorkwab toe waardoor de bijnier extra wordt aangezet tot hormoonproductie, vooral van hormonen die voor het enzymblok zijn gelegen zoals 17α -hydroxyprogesteron en de androgenen androsteneendion en testosteron. Deze androgeenovermaat veroorzaakt virilisatie van de genitalia externa bij meisjes. Omdat het enzym 21-hydroxylase ook is ingeschakeld in de synthese van aldosteron treedt bij dit ziektebeeld ook vaak zoutverlies op.

Aan het AGS ligt een stoornis ten grondslag in één van de enzymen die betrokken zijn bij de synthese van cortisol. Hierdoor neemt de secretie van ACTH toe (verminderde negatieve feedback) en worden de bijniere hyperplastisch. Dit leidt tot een vermeerderde synthese van bijnierhormonen die vóór het enzymblock zijn gelegen. Dit zijn meestal mannelijke hormonen, en die geven aanleiding tot virilisatie bij meisjes. Bij de meest frequente vorm, 21-hydroxylasedeficiëntie kan ook de synthese van aldosteron gestoord zijn, waardoor zoutverlies en dehydratie optreden. Bij jongetjes is dit vaak het eerste teken van een AGS. De behandeling bestaat uit substitutie met hydrocortison en, in gevallen met zoutverlies, een mineralocorticoïd zoals fludrocortisonacetaat. En hier beginnen meteen de controversen.

De dagdosis hydrocortison wordt meestal verdeeld over drie giften, waarbij de laatste gift zo laat mogelijk, vlak voor het slapengaan, wordt toegediend. Het doel daarvan is om ook bij jonge kinderen, met hun lange nachtpauze, de ACTH-secretie, die vooral in de vroege ochtenduren aantrekt, zo goed mogelijk te supprimeren. Sommige kinderendocrinologen geven daarom de helft van de dagdosis in de laatste gift, maar het is de vraag of dit zinvol is. Onderzoek heeft aangetoond dat ACTH-suppressie alleen gewaarborgd is als een gift wordt gegeven in de nacht, rond drie uur 's ochtends. Praktisch gezien is dit moeilijk te verwezenlijken. Een alternatief zou zijn de avondgift in de vorm van een langerwerkend preparaat te geven, zoals prednison of dexamethason, maar vooral bij jonge kinderen is dit moeilijk te doseren en een sustained release preparaat met hydrocortison bestaat helaas nog niet. Door de werkgroep AGS van de sectie Kinderendocrinologie wordt gewerkt aan een onderzoeksprotocol dat hierin meer klaarheid moet brengen.

Hydrocortison wordt meestal afgeleverd in capsulevorm. Van belang is om als hulpstof Primogel of melksuiker te gebruiken en geen cellulose omdat er aanwijzingen zijn dat door binding aan cellulose de biologische beschikbaarheid afneemt. Helaas is hydrocortison in drankvorm instabiel door hydrolyse en oxidatie aan de lucht, dus deze toedieningsvorm komt niet in aanmerking. Omdat bij allerlei vormen van stress – koortsende ziekten, ongevallen, enzovoorts – een drie- tot vijfmaal verhoogde dosis hydrocortison gegeven moet worden³⁾, dient de patiënt te beschikken over een reservevoorraad capsules. Is wegens braken orale inname onmogelijk of onbetrouwbaar, dan kan een stressdosis hydrocortison gegeven worden door middel van zetabletten: hydrocortisonhemisuccinaat in Witepsol W45, kinderen <1 jaar 200 mg/m², > 1 jaar 100 mg/m²; elke 8 uur een zetpil tot het braken over is waarna weer overgaan kan worden op orale toediening in stressdosering. In onze ervaring is met dit regime parenterale toediening van glucocorticoïden (Solu-Cortef[®], Di-Adreson-F aq[®]) vrijwel nooit meer nodig.

In een gezin waarin een kind met AGS is geboren kan bij een volgende zwangerschap intra-uteriene virilisatie van een meisje met een AGS worden

³⁾ Wellicht ten overvloede: de dosering fludrocortisonacetaat dient tijdens de stress niet te worden verhoogd!

voorkomen door aan de moeder vanaf het prille begin van de zwangerschap een glucocorticoïd te geven dat de placenta passeert – meestal wordt hiervoor dexamethason gekozen. In de twaalfde week wordt dan een chorionvillusbiopt genomen waarin wordt bepaald wat het geslacht van de foetus is en of de vrucht de aandoening heeft of niet. Alléén als het gaat om een aangedaan meisje wordt doorbehandeld met dexamethason. Omdat dit in slechts één van de acht zwangerschappen het geval is, betekent dit dat zeven van de acht moeders achteraf onterecht behandeld zijn gedurende de eerste drie maanden van de zwangerschap. Dit scheidt een ethisch dilemma, dat vooralsnog door het ontbreken van langdurige follow-up studies niet opgelost kan worden. Hoewel tot nu toe geen consistente schadelijke effecten van deze behandeling zijn gerapporteerd blijft terughoudendheid dus geboden (Joint ESPE/LWPES CAH working group, 2002).

(TE) LANGE KINDEREN

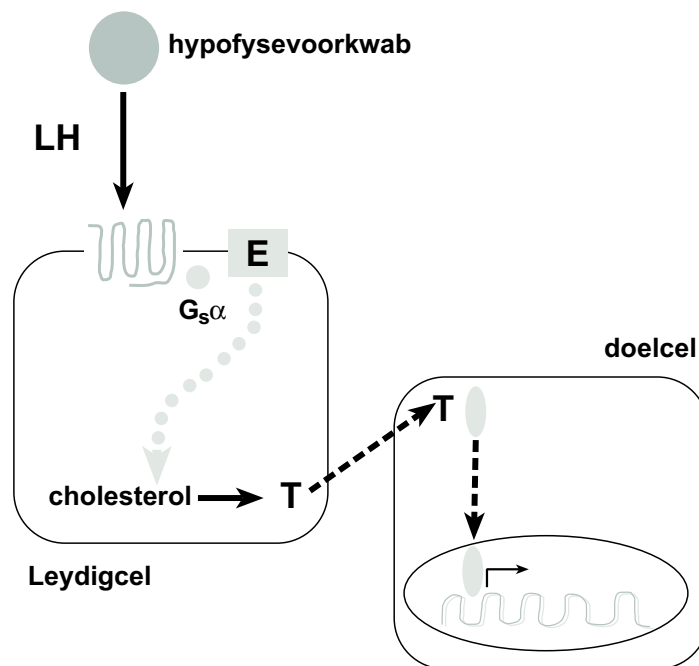
Met de behandeling van te lange kinderen met hoge doses geslachtssteroïden begeben we ons in één van de grijze zones van de kinderendocrinologie waarover in de inleiding gesproken is. In de afgelopen 50 jaar is de Nederlandse bevolking gemiddeld zo'n 8 cm langer geworden. De Nederlandse man meet nu gemiddeld 184 cm, de Nederlandse vrouw bijna 171 cm. Het ziet ernaar uit dat deze zogenaamde 'eeuwtrend' nog aanhoudt, zij het niet meer met de snelheid van een aantal decennia geleden. Toch is het aannemelijk dat wat 'lang' is voor de huidige generatie, al veel minder opvallend zal zijn eer we een generatie verder zijn. Dit maakt de beslissing er niet gemakkelijker op om kinderen met een grote lengte te gaan behandelen (vaak op aandringen van de eveneens lange ouders). Daarbij komt dat onze middelen om een prognose van de eindlengte te geven uitermate beperkt zijn. In het algemeen wordt veel te veel waarde gehecht aan eindlengtepredicties op basis van een handfoto – in de praktijk komt het erop neer dat we hooguit een schatting kunnen maken van de eindlengte met een marge van 5 cm. De beslissing om te gaan behandelen hangt dan ook veelal samen met een aantal andere factoren – de lengte van de ouders en overige familieleden, het puberteitsstadium, en het verloop van de groeicurve tot dan toe.

De behandeling bestaat bij meisjes uit hoge doses ethinyloestradiol (200 µg/dag) in combinatie met een progestativum (14 dagen per maand); aan jongens wordt 500 mg Sustanon 250® per 2 weken i.m. voorgeschreven. De behandeling verloopt in het algemeen succesvoller bij meisjes dan bij jongens omdat oestrogenen in hoge dosis niet alleen de skeletrijping versnellen maar ook de groei zelf remmen, terwijl jongens hun 'winst' geheel moeten halen uit de versnelling van de skeletrijping. De behandeling wordt meestal goed verdragen maar er bestaat nog steeds enige onzekerheid over de effecten op lange termijn (met name wat betreft kanker, en hart- en vaatziekten) al geven de grote meta-analyses tot nu toe geen aanleiding tot onrust. Toch blijft het een behandeling die behoorlijk diep ingrijpt

in een fysiologisch proces (puberteitsontwikkeling) bij perfect gezonde kinderen, en vrijwel altijd zonder dat er een medische noodzaak voor is – iets om niet te lichtvaardig mee om te gaan. Onze rol in dit geheel beperkt zich over het algemeen tot het geven van voorlichting en uitleg – de uiteindelijke beslissing proberen we zoveel mogelijk te leggen bij het kind in kwestie (Drop *et al*, 1998).

TESTOTOXICOSE

In de groep gonadotrofine-onafhankelijke ('pseudo'-)pubertas praecox bij jongens neemt het AGS (zie boven) een prominente plaats in: de androgeenproductie komt bij die jongens geheel uit de bijniieren en is ACTH-afhankelijk. Minder vaak is er sprake van autonome productie van androgenen vanuit de testikels. Tumoren van testosteron-producerende cellen, zogenaamde Leydigceltumoren, zijn uitermate zeldzaam. Veeleer gaat het hierbij om een curieus ziektebeeld, testotoxicose genaamd, waarbij de Leydigcellen autonoom testosteron produceren door een activerende mutatie in de receptor voor luteïniserend hormoon (LH) (figuur 2).



Figuur 2. Schematische weergave van de synthese en werking van testosteron. Luteïniserend hormoon (LH) uit de hypofysevoorkwab zet via de G-eiwitgekoppelde LH-receptor de Leydigcellen in de testis aan tot de productie van testosteron (T) uit cholesterol. Testosteron bereikt via de bloedbaan zijn doelcellen waar het bindt aan de testosteronreceptor die, na translocatie naar de celkern, de expressie beïnvloedt van genen met een androgeen responsief element in de promotor.

In Utrecht wordt een vijftal van zulke jongens behandeld. De vroege puberteitsontwikkeling komt soms al in de familie voor (en beperkt zich dan tot de mannelijke lijn), soms is er sprake van een nieuwe mutatie die door de moeder op haar zoon(s) is overgedragen. Deze kinderen beginnen al op zeer jonge leeftijd puberteitsverschijnselen te vertonen (penisvergroting, pubisbehaaring, versnelde lichaamsgroei) en in het serum worden voor de leeftijd veel te hoge testosteronwaarden gevonden. Door de blootstelling aan testosteron groeien deze jongens weliswaar hard, maar gaat ook de skeletrijping met sprongen vooruit zodat de uiteindelijke lengte beperkt blijft en vaak onder de 1.60 m uitkomt. Dit, samen met de maatschappelijk ongewenste vroege puberteitsontwikkeling, maakt dat een behandeling te verdedigen is, ook al bestaat daarvoor ook hier geen puur medische indicatie.

Wat zijn de opties voor behandeling? GnRH-analogen komen bij de behandeling van deze vorm van pubertas praecox niet in aanmerking omdat de puberteit gonadotrofine-onafhankelijk is. Wel is behandeling mogelijk met cyproteronacetaat, dat als anti-androgeen te boek staat, maar dat in de doseringen die bij dit beeld gebruikt moeten worden (4 dd 25 mg/m²) de totale geslachtshormoon synthese, in bijnieren en gonaden, vermindert door competitieve remming van het 17-dehydrogenase/17-lyase enzymcomplex (P450_{c17}). Helaas komt hierdoor ook de cortisolsynthese nagenoeg stil te liggen. Hierdoor krijgen de kinderen Addison-achtige klachten (moeheid, lamlendigheid) die slechts ten dele zijn te verhelpen met hydrocortisonsubstitutie. Geen fijn middel, dus. Een andere optie is ketoconazol, dat – eveneens in de hogere doseringen, 2-3 dd 200 mg/m² – een werking heeft die vergelijkbaar is met die van cyproteronacetaat (inhibitie van P450_{c17}) maar daarnaast belangrijke bijwerkingen heeft, zoals leverbeschadiging en beenmergdepressie. In de jaren '90 nam men daarom zijn toevlucht tot de (zwakke) testosteronreceptor-blokkerende werking van spironolacton, in combinatie met de (eveneens zwakke) aromataseremmer testolacton, dit laatste onder andere om te voorkomen dat de jongens gynecomastie zouden ontwikkelen.

Voortbordurend op deze laatste optie zijn er nu veel krachtiger testosteronreceptorblokkers en aromataseremmers. Hoewel de ervaring met deze middelen bij kinderen nog gering is mag men nu wel stellen dat bijvoorbeeld de combinatie bicalutamide-anastrozol de eerste keus is in de moeizame behandeling van dit ziektebeeld. Deze middelen hebben een zeer geringe toxiciteit en onderdrukken de puberteitsverschijnselen uitstekend. Binnenkort gaat een Europese studie van start met deze medicamenten (Traggiai *et al*, 2003).

CONCLUSIE

Uit het bovenstaande blijkt dat behandeling van kinderen met hormonen lang niet altijd eenduidig is. Natuurlijk, er zijn 'geheide' indicaties waarbij het behandelingsprotocol goed en eenduidig is vastgelegd (groeihormoon, thyroxine,

GnRH-analoga, enzovoort). Er zijn echter ook ziektebeelden waarbij de indicatie tot behandeling duidelijk is, maar de praktische uitvoering ervan allerminst uniform (adrenogenitaal syndroom). Voorts zien we in de kinderendocrinologie nogal wat kinderen waarbij er helemaal geen medische indicatie is tot behandeling, maar de vraag wel bestaat omdat men weet dat de mogelijkheden er zijn (lange kinderen). Tenslotte zijn er kinderen met ziektebeelden waarvoor niet of nauwelijks een gevalideerde behandeling voorhanden is (testotoxicose), maar waarbij men wel, door inzicht in de aard van het ziekteproces, tot een rationele behandeling kan besluiten. Voor veel van deze ziektebeelden geldt dat er nog behoorlijk wat aanvullend onderzoek nodig is voordat we tot een consensus kunnen komen. Door de kleine patiëntengroepen is dit vaak een moeizaam proces. Tot het zover is zal men dus, door voorzichtig te laveren, zo goed mogelijk moeten vasthouden aan het algemene uitgangspunt dat de beschikbare middelen niet erger mogen zijn dan de kwaal.

REFERENTIES

Joint ESPE/LWPES CAH working group: Consensus statement on 21-hydroxylase deficiency from the European Society for Pediatric Endocrinology and the Lawson Wilkins Pediatric Endocrine Society. *Horm Res* 2002; 58: 188-195.

Drop SLS, de Waal WJ, de Muinck Keizer-Schrama SMPF. Sex steroid treatment of constitutionally tall stature. *Endocr Rev* 1998; 19: 540-558.

Traggiai C, Stanhope R. Disorders of pubertal development. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2003; 17: 41-56.

PROF. DR HJT COELINGH BENNINK



Herjan Coelingh Bennink (HCB) studeerde geneeskunde aan de Universiteiten van Utrecht en Rotterdam. Na het artsexamen in 1969 specialiseerde hij zich in interne geneeskunde (2 jaar) en daarna in gynaecologie/verloskunde. Na registratie als gynaecoloog in 1976 koos hij voor de aantrekkelijke combinatie van patiëntenzorg, onderwijs, onderzoek en management in de Utrechtse Vrouwenkliniek bij zijn opleider Prof. Haspels, aanvankelijk als Chef de Clinique

Verloskunde, later als hoofd van de afdeling Gynaecologische Endocrinologie.

Promotie volgde in 1980 op een onderzoek naar zwangerschapsdiabetes. In 1987 trad HCB in dienst bij Organon in Oss, waar hij gedurende circa 9 jaar wereldwijd verantwoordelijk was voor alle klinische ontwikkeling op het gebied van voortplantingsgeneeskunde (anticonceptie, infertiliteit, HRT). In 1996 werd HCB bij Organon verantwoordelijk voor alle R&D op hetzelfde terrein. In deze functies is HCB onder andere verantwoordelijk geweest voor de ontwikkeling en registratie van recombinant FSH, een GnRH-antagonist, een progestagene contraceptieve implant, een contraceptieve vaginale ring, een 'progestogen only pill' en tibolone voor osteoporose.

In 1997 is HCB benoemd tot deeltijd hoogleraar aan de Vrije Universiteit te Brussel.

Eind 2000 heeft HCB ontslag genomen bij Organon om per 1 januari 2001 te starten met Pantarhei Bioscience (PRB), een onafhankelijk instituut voor Klinische Concept Research. PRB ontwerpt, patenteert, test en licenseert verbeterde behandelingsmethoden op voortplantingsgebied uit met gebruikmaking van reeds bestaande hormonen en geneesmiddelen.

HJT Coelingh Bennink

Indien men de pathofysiologie van ziekten, waarbij geslachtshormonen zijn betrokken, wilt begrijpen, dient men eerst de fysiologie van deze hormonen te kennen. Geslachtshormonen, zowel de peptides als de (glyco-)proteïnen als de steroïden zijn goed meetbaar in biologische media (bloed, follikelvocht, semen). Mede daardoor is de fysiologie van de geslachtshormonen al vele jaren in grote lijnen bekend. Begrip van de fysiologische functie leidt tevens tot het ontwikkelen van rationele behandelingsmethoden en nieuwe geneesmiddelen.

GESLACHTSHORMONEN BIJ DE VROUW: FYSIOLOGIE VAN DE MENSTRUELE CYCLUS

Een juist inzicht in en een goed begrip van de fysiologie van de normale menstruele cyclus zijn nodig om pathologische veranderingen van de cyclus op adequate wijze te diagnostiseren en te behandelen. In eerste instantie wordt daarom aandacht besteed aan de normale follikelrijping en ovulatie, de neuro-endocriene regulatie van de cyclus en de verschillende hormonale veranderingen die tijdens de cyclus plaatsvinden.

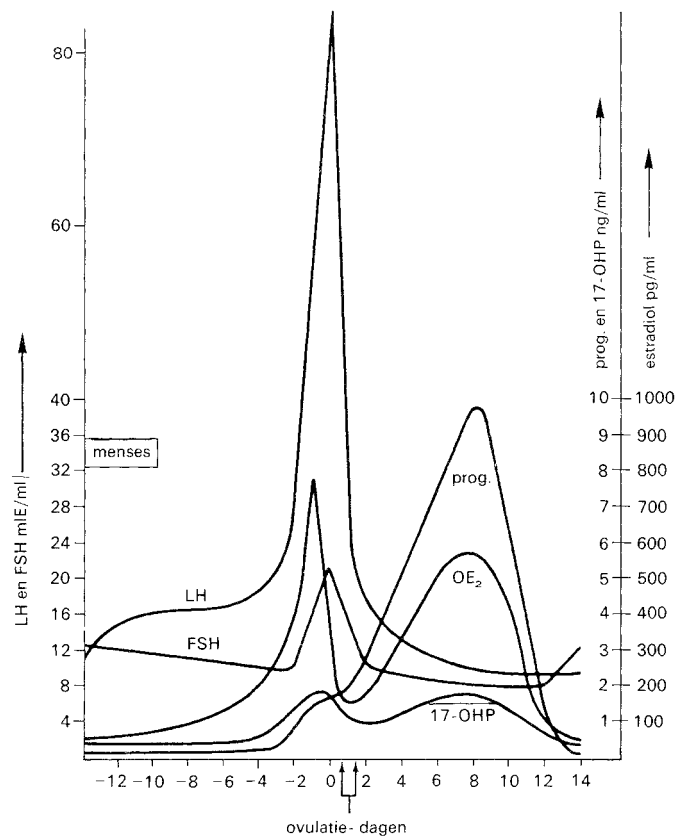
Neuro-endocriene regulatie van de menstruele cyclus

De menstruele cyclus komt tot stand als gevolg van een uitgebalanceerd samenspel tussen hypothalamus, hypofyse en ovaria. De precieze regulatiemechanismen die verantwoordelijk zijn voor de positieve en de negatieve terugkoppeling binnen de as hypothalamus/hypofyse/ovarium zijn grotendeels bekend. Het is een cyclisch proces dankzij de bouw van het follikelcompartiment. De follikel bepaalt zijn eigen levensloop door de cyclische productie van steroïden.

De hypothalamus controleert de hypofysaire afgifte van gonadotrofinen door het afscheiden van *gonadotrophin-releasing hormone* (GnRH). GnRH is voornamelijk afkomstig uit de nucleus arcuatus in de hypothalamus en stimuleert zowel de hypofysaire afgifte van FSH als de afgifte van LH. GnRH wordt stootsgewijs (pulsatief) door de hypothalamus in de portale circulatie gebracht. De hypofyse wordt ten gevolge van de korte halfwaardetijd van GnRH (8 tot 10 minuten) intermitterend gestimuleerd. Dat de respons van de hypofyse op GnRH-stimulatie in de loop van de cyclus zo verschillend is, wordt verklaard door de modulerende invloed van steroïden, met name 17- β -oestradiol en progesteron, op de hypofysevoorkwab en op de hypothalamus.

GnRH heeft zowel invloed op de aanmaak en opslag van gonadotrofinen als op de afgifte van LH en FSH aan de circulatie. In de vroeg-folliculaire fase overheerst een positief effect van GnRH op de synthese en opslag van gonadotrofinen; in deze fase van de cyclus overheerst een negatief effect van GnRH op de secretie van gonadotrofinen. Bij stijgende oestrogenconcentraties wordt een toenemende aanmaak en opslag van de gonadotrofinen in de hypofyse gezien in reactie op een stabiele GnRH-stimulatie door de hypothalamus.

Wanneer een kritische concentratie van circulerende oestrogenen gedurende een bepaalde periode wordt gehandhaafd, is een positief effect op de afgifte van gonadotrofinen het resultaat en zo ontstaat de midcyclische LH- (en FSH-) piek (figuur 1). De midcyclische gonadotrofinen piek is mede afhankelijk van de stijgende progesteronconcentratie in de preovulatorische periode.



Figuur 1. De onderlinge relatie tussen LH, FSH, 17 β -estradiol (OE₂), progesteron (prog.) en 17 α -OH-progesteron (17-OHP) tijdens de menstruele cyclus. Dag 0 is gedefinieerd als de dag van de LH-piek. Links is de folliculaire fase aangegeven, rechts de luteale fase (uit: Rolland et al, 1985).

De LH-piek is verantwoordelijk voor ten minste drie belangrijke fenomenen:

- de feitelijke ovulatie door de ruptuur van de follikel,
- het hervatten van de meiose door de zich in profase I bevindende oöcyt, en
- de luteïnisatie en vorming van het corpus luteum.

Het belang van de FSH-piek is vooral gelegen in het feit dat FSH de vorming van LH-receptoren op granulosa-cellen induceert en daarmee de kwaliteit van de luteale fase mede bepaalt (duur en hoogte van de progesteronspiegels).

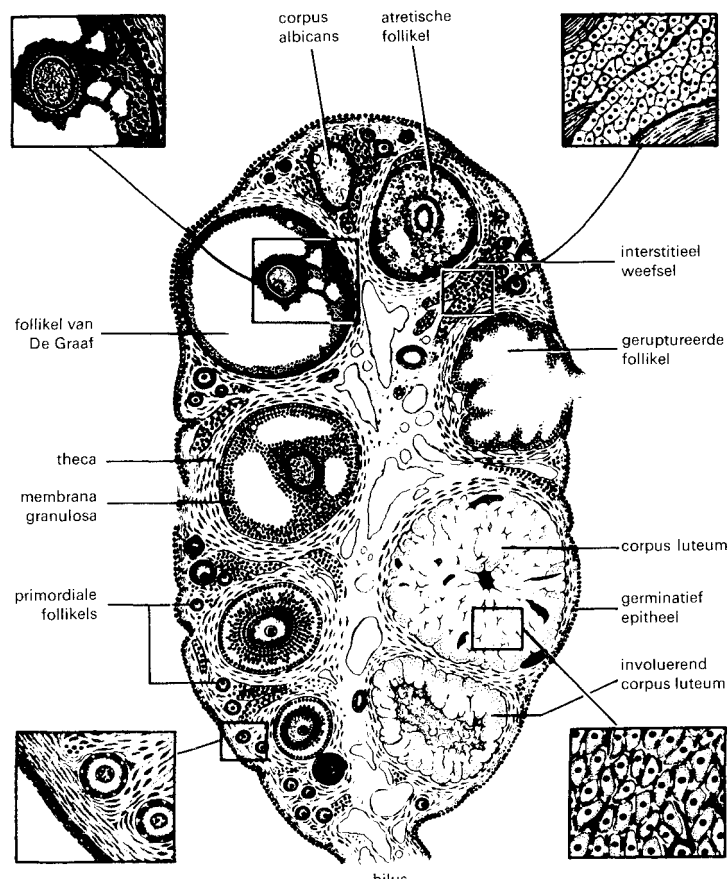
De gonadotrofinspiegels dalen wanneer na de ovulatie een gestegen progesteronconcentratie samen met een hoge oestrogenconcentratie gehandhaafd blijft. Het lijkt erop dat progesteron zelf een duidelijk negatief effect heeft op de afgifte van gonadotrofines, maar dat in de aanwezigheid van progesteron de negatieve terugkoppeling van oestradiol op de hypothalamo-hypofysaire as overheerst.

Het beeld dat men thans heeft van de neuro-endocriene regulatie van de menstruele cyclus kan als volgt worden samengevat:

- de pulsatieve afgifte van GnRH door de hypothalamus vindt onder normale omstandigheden plaats binnen vaste grenzen wat betreft frequentie (90 tot 120 minuten) en concentratie; dit uitgezonderd de periode van ongeveer 48 uur tijdens de LH-piek, waarin de afgifte sterk toeneemt, waardoor de GnRH spiegel aanzienlijk stijgt en de pulsatiliteit op een hoger basaal niveau plaats vindt;
- de gonadotrofines worden in reactie op de GnRH-stimulatie pulsatief afgegeven; door de korte eliminatiehalfwaardetijd van LH (8 tot 10 minuten) vertonen de serumspiegels van LH ook een pulsatief patroon; door de veel langere halfwaardetijd van FSH (20 tot 30 uur) vertoont de FSH-serumspiegel geen pulsatief verloop;
- GnRH heeft een positief effect op de aanmaak, opslag en secretie van gonadotrofines door de hypofysevoorkwab;
- een lage serumconcentratie van oestrogenen stimuleert de synthese en opslag van FSH en LH; een lage oestrogenconcentratie heeft weinig effect op de LH-secretie; bij een blijvend lage oestrogenconcentratie wordt door ontbrekende negatieve terugkoppeling een hoge FSH- en LH-concentratie gevonden;
- een hoge serumconcentratie van oestrogenen induceert de midcyclische LH-piek; voortdurend hoge oestrogenconcentraties hebben een aanhoudend hoge LH-secretie tot gevolg;
- een lage maar stijgende serumconcentratie van progesteron heeft op het niveau van de hypofyse een positief effect op de LH-afgifte in reactie op GnRH-stimulatie;
- hoge serumconcentraties van progesteron in combinatie met oestradiol remmen de hypofysaire afgifte van gonadotrofines doordat de GnRH-pulsfrequentie daalt; de GnRH-pulsfrequentie is in de folliculaire fase derhalve hoger (90 tot 120 minuten) dan in de luteale fase (240 minuten)

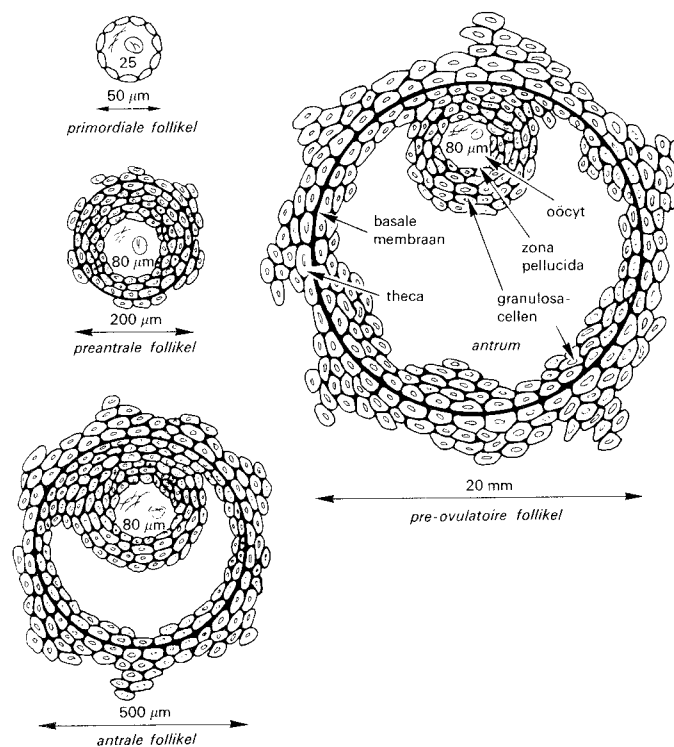
Follikelrijping en ovulatie

In een ovarium treft men verschillende stadia van rijpende follikels aan. Een follikel bestaat uit een oöcyt, granulocellen en thecacellen. Afhankelijk van het ontwikkelingsstadium kan er ook een antrum zijn. Na de ovulatie vormt de follikelrest het corpus luteum. Zolang er follikels zijn is er onder fysiologische omstandigheden voortdurend sprake van enige follikelgroei; ook tijdens de zwangerschap gaat dit proces door. Gedurende het proces van follikelrijping ondergaat de follikel verschillende veranderingen. In de folliculaire fase van de cyclus vinden de belangrijkste veranderingen plaats; in het algemeen nemen zij 10 tot 14 dagen in beslag. Het eindresultaat van follikelrijping is de ontwikkeling van doorgaans één enkele rijpe follikel (de preovulatoire Graafse follikel).



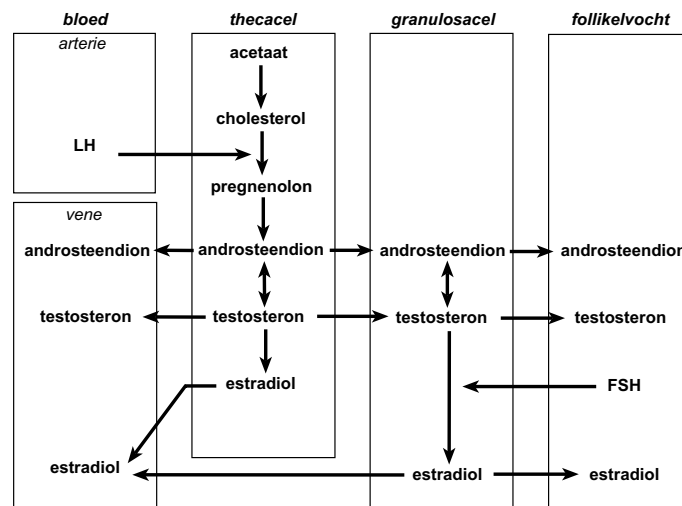
Figuur 2. De verschillende structuren die op doorsnede in een ovarium te zien zijn. De veranderingen die optreden in een follikeleenheid vanaf de primordiale follikel tot het in regressie gaande corpus luteum zijn 'met de klok mee' aangegeven (uit: Rolland et al, 1985).

De primordiale follikel bestaat uit een tijdens de profase van de eerste meiotische deling tot stilstand gekomen oöcyt, die omgeven wordt door één laag van granulocellen. Tijdens follikelrijping neemt de diameter van de oöcyt toe van 10 à 20 μm tot ongeveer 125 μm . Het blijkt dat de oöcyt zelf een belangrijke invloed uitoefent op de verschillende veranderingen die in een rijpende follikel optreden. Het is onbekend op welke wijze het maandelijke cohort van ongeveer 1000 follikels geselecteerd wordt om deel te nemen aan die betreffende cyclus. De overgrote meerderheid van deze 1000 follikels gaat al dan niet na een korte periode van ontwikkeling te gronde in een continu proces genaamd atresie. Dit algemene patroon wordt aan het begin van de cyclus doorbroken wanneer een groep follikels onder invloed van stijgende FSH-spiegels tot groei wordt aangezet. Mogelijk worden deze follikels al aan het einde van de voorafgaande cyclus voor atresie behoed door de dan al stijgende FSH-afgifte. Tijdens de groei van de primordiale tot de preantrale follikel wordt de oöcyt omgeven door een uit mucopolysacchariden opgebouwde membraan, de zona pellucida. Granulosacellen prolifereren en in het stroma ovarii liggende thecacellen organiseren zich rondom de follikel. De thecacellen vormen de cellagen die aangeduid zullen worden als theca interna.



Figuur 3. De primordiale, pre-antrale, antrale en pre-ovulatoire follikel (uit: Rolland et al, 1985).

Onder invloed van gonadotrofinen kan de preantrale follikel steroïden produceren. De thecacellen produceren onder invloed van LH-androgenen (testosteron en androsteendion), die getransporteerd worden naar de granulosacellen. Granulosacellen zijn in staat om in aanwezigheid van voldoende FSH met behulp van een aromatase enzym androgenen te aromatiseren tot oestrogenen. Dit is van groot belang omdat follikelrijping uitsluitend optimaal blijkt te kunnen verlopen in een milieu dat rijk is aan oestrogenen. De follikel kan dus het eigen hormonale micromilieu beïnvloeden. Essentieel hiervoor is de beschikbaarheid van juiste hoeveelheden FSH. De gevoeligheid van granulosacellen voor FSH neemt tijdens de follikelgroei nog toe door inductie van FSH-receptoren onder invloed van FSH zelf in combinatie met de stijgende oestrogeenspiegels. Bij een overmaat van androgenen kan de normale follikelgroei stagneren en ontstaan multiple kleine follikelcysten in het ovarium; het zogenaamde Polycysteuze Ovarium Syndroom (PCOS). Succesvolle follikelrijping wordt dus sterk bepaald door het vermogen van de preantrale follikel om onder invloed van LH en FSH via conversie van androgenen een aan oestrogenen rijk milieu te realiseren, het 'twee cellen (theca en granulosa), twee gonadotrofinen (LH en FSH)'- concept. Onder invloed van oestrogenen en FSH neemt de productie van follikelvoestof toe en vormt zich het antrum. In de follikelvoestof van de gezonde antrale follikel bestaan hoge oestrogeenspiegels en de ratio androgenen/oestrogenen is laag. Een overmaat aan androgenen in de follikelvoestof werkt remmend op de door oestrogenen veroorzaakte granulosacelproliferatie en heeft degeneratie van de oöcyt tot gevolg. In figuur 4 is schematisch de relatie weergegeven tussen de theca interna, granulosacellen, follikelvoestof en het perifere bloed.



Figuur 4. De aanmaak van androgenen en oestrogenen door de antrale follikel (naar: Rolland et al, 1985).

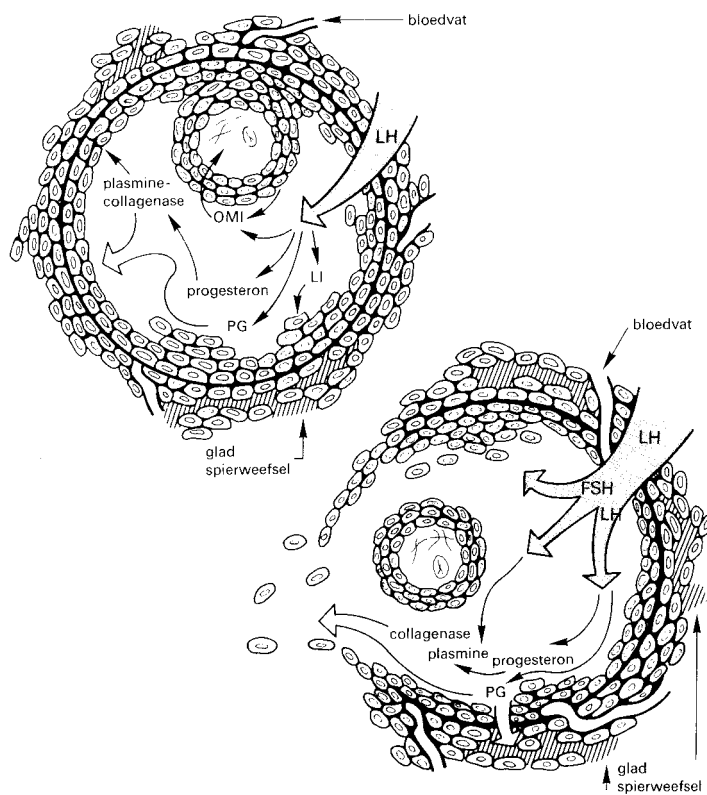
In de loop van het proces van follikelrijping vindt dus een selectie plaats, waarbij één dominante follikel zich gaat onderscheiden van de andere follikels. De voortgaande groei van de dominante follikel is mogelijk doordat deze follikel naar verhouding meer FSH-receptoren bezit., ondanks een dalende FSH-afgifte door de hypofyse ten gevolge van de negatieve terugkoppeling door de toename van oestrogenen. De minder rijpe en derhalve FSH-receptor-arme follikels gaan te gronde door nu tekortschietende proliferatie van de granulosa-cellen. De toegenomen vascularisatie van de theca interna van de dominante follikel kan er extra toe bijdragen dat FSH juist daar komt waar het in deze fase van follikelrijping nodig is.

Op de granulosa-cellen vormen zich onder invloed van FSH en oestrogenen LH-receptoren, die later van betekenis zijn bij de respons op de midcyclische LH-piek. De regulatie van LH- en FSH-afgifte door de hypofyse kwam reeds eerder ter sprake. Het is hier van belang te vermelden dat de stijgende oestradiolproductie zoals die mid- en laat-folliculair gezien wordt een positief effect heeft op de productie en afgifte van LH. Zowel de hoogte van de oestradiolconcentratie als de periode gedurende welke een hoge oestradiolspiegel wordt gehandhaafd bepalen het ontstaan van de midcyclische LH-piek.

De preovulatoire follikel kenmerkt zich door de groter wordende granulosa-cellen en de rijke vascularisatie van de theca. Onder invloed van de hoge LH-concentratie luteïniseren granulosa-cellen en komt progesteronproductie op gang. Reeds voor de ovulatie wordt een begin van de stijgende progesteronproductie waargenomen.

De exacte mechanismen die verantwoordelijk zijn voor de feitelijke ovulatie, te weten de ruptuur van de Graafse follikel, zijn onbekend. De LH-piek draagt ertoe bij dat de progesteron- en prostaglandinesynthese in de follikel toenemen. Progesteron stimuleert proteolytische enzymen en prostaglandinen bij het verweken van de follikelwand. De ovulatie vindt doorgaans 36 tot 38 uur na het begin van de LH-piek plaats. De verschillende factoren die op het niveau van de follikel bijdragen aan de ovulatie zijn weergegeven in figuur 5.

Na de ovulatie vormt zich ter plaatse van de follikel het corpus luteum. Dit wordt gevormd door granulosa-cellen en door theca- en stromacellen die afkomstig zijn uit de naaste omgeving van de follikel. Direct na de ovulatie is de capaciteit van de luteïne-cellen om steroïden te produceren reeds aanwezig. De ingroei van capillairen in het corpus luteum neemt echter enige dagen in beslag zodat de serumconcentraties van progesteron en oestradiol pas maximale waarden bereiken 8 à 9 dagen na de ovulatie. De luteale fase duurt onder normale omstandigheden 12 tot 14 dagen. Een voldoende luteale fase volgt op een periode van optimale follikelrijping en kan voortduren dankzij adequate LH-stimulatie in deze periode van de cyclus. De oorzaak van de regressie van het corpus luteum gevolgd door een onttrekkingsbloeding genaamd menstruatie is nog steeds onbekend.



Figuur 5. De verschillende factoren die bij de ovulatie een rol spelen (uit: Rolland et al, 1985).

Hormonale veranderingen tijdens de menstruatie

De cyclische veranderingen van de gonadotrofinen en verschillende steroïden zijn eerder weergegeven in figuur 1. De menstruele cyclus kan verdeeld worden in drie fasen: de folliculaire fase, de peri-ovulatoire fase en de luteale fase. Een verdere onderverdeling van deze fasen is mogelijk. Laat in de luteale fase, kort voor het begin van de menstruatie, wanneer de regressie van het corpus luteum aanvangt, dalen de serumoestradiol- en progesteronconcentraties. Het negatieve terugkoppelingseffect van deze steroïden op de hypothalamo-hypofysaire eenheid neemt daardoor af. Vooral de FSH-afgifte neemt toe. Onder invloed van de stijgende FSH-concentraties gaat een nieuwe groep follikels rijpen. De serumconcentratie van oestradiol stijgt nu door toegenomen ovariële secretie. Zodra de oestradiolspiegel in het serum toeneemt daalt de FSH-afgifte bij een constante, later stijgende LH-secretie. In de pre-ovulatoire periode is er een exponentieel toenemende oestradiolproductie door de Graafse follikel. Het positieve-feedbacksysteem in de hypothalamo-hypofysaire eenheid wordt daardoor geactiveerd, met tot gevolg een sterke stijging van LH en in mindere mate van

FSH. De snelle stijging van LH draagt bij aan de laatste rijpingsfase van de Graafse follikel, en 36 tot 38 uur na het begin van de LH-stijging vindt de ovulatie plaats. Onder invloed van LH schakelen granulosa-cellen in deze periode van de cyclus om naar de productie van progesteron. Naarmate het corpus luteum zich organiseert, is er toenemende progesteronsecretie. Ook de oestradiolafgifte stijgt weer na een aanvankelijke daling. Tevens stijgt de productie van 17α -hydroxyprogesteron. In de luteale fase dalen de serumspiegels van LH en FSH als gevolg van het overwegend negatief-feedback-effect van oestradiol en progesteron op de hypothalamo-hypofysaire eenheid. De follikelrijping is in deze cyclusfase dan ook minimaal geworden.

De regressie van het corpus luteum zet ongeveer 10 dagen post-ovulair in en de als gevolg hiervan dalende oestradiol- en progesteronproductie wordt gevolgd door stijgende FSH-secretie. Een nieuwe groep follikels wordt gerecruteerd en gestimuleerd en de start voor een nieuwe cyclus wordt gemaakt.

Veranderingen in het endometrium

De veranderingen die het endometrium cyclisch ondergaat onder invloed van oestradiol en progesteron zijn erop gericht de innesteling (nidatie) van een embryo mogelijk te maken. Het endometrium heeft dan, ongeveer 7 dagen na de ovulatie, een voldoende dikte en de vascularisatie is optimaal. Tevens komen een aantal specifieke genen tot expressie voor eiwitten zoals glycodeline (PP 14) en *vascular endothelial growth factor* (VEGF), waardoor mid-luteaal een hoge concentratie van dergelijke eiwitten aanwezig is in het endometrium. Wanneer er geen conceptie heeft plaatsgevonden en de productie van humaan choriongonadotrofine (hCG) door de trofoblast uitblijft, vindt afstoting van het endometrium plaats. De basale laag blijft evenwel intact en van hieruit kan, onder invloed van de bij follikelrijping geproduceerde oestrogenen, weer opbouw volgen.

In de opeenvolgende veranderingen die tijdens de cyclus in het endometrium worden aangetroffen kan men verschillende fasen herkennen. Naast de menstruatie worden een proliferatie-, een secretie-, en een implantatiefase onderscheiden.

Na de menstruatiefase, waarbij 2/3 deel van het endometrium verloren gaat, volgt de proliferatiefase. Tijdens de proliferatiefase vindt weer opbouw van het endometrium plaats. De groei van het endometrium is een direct gevolg van de toegenomen productie van oestradiol afkomstig van de rijpende follikels. In deze fase neemt de dikte van het endometrium toe van 0.5 tot 3.5 à 5 mm. Deze diktegroei kan echoscopisch goed gevolgd worden. Er is sprake van daadwerkelijke celvermeerdering, hetgeen ook blijkt uit de mitosen die in het prolifererende endometrium worden gevonden. Wanneer de productie van progesteron ten tijde van de ovulatie op gang komt en na de ovulatie nog verder toeneemt leidt dit tot kenmerkende veranderingen in het endometrium. De klierbuizen van het endometrium vertonen de op gang komende secretie en de vascularisatie via de spiraalarteriën wordt intensiever. Rond de zevende dag post-ovulatoir is het endometrium klaar voor de ontvangst van een conceptus. In het endometrium

onderscheidt men dan behalve de basale laag een middendeel, het stratum spongiosum. In deze laag wordt een los oedemateus stroma gezien met tussen de gedilateerde klierbuizen vele spiraalarteriën. Over dit stratum spongiosum ligt een wat dichtere, afsluitende laag, die stratum compactum genoemd wordt. Wanneer fertilisatie uitblijft en het corpus luteum in regressie gaat, dalen de oestradiol- en progesteronconcentraties aanzienlijk, en op het niveau van het endometrium volgen na een intensieve vasomotore reactie, verlies van weefsel en menstruatie. Binnen een etmaal neemt de dikte van het endometrium af van ongeveer 5 tot 1.5 mm.

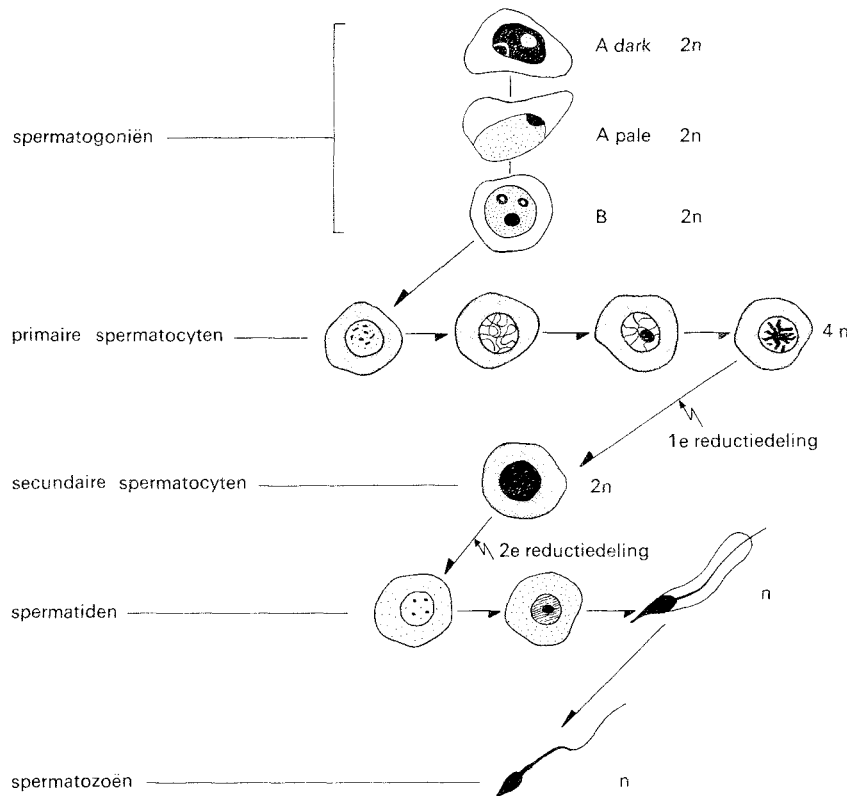
GESLACHTSHORMONEN BIJ DE MAN

Spermatogenese

De twee belangrijkste functies van de testis zijn de afscheiding van steroïdhormonen (voornamelijk 17-hydroxyprogesteron, testosteron en estradiol) door de cellen van Leydig onder invloed van LH, en de spermatogenese in de tubuli seminiferi onder invloed van FSH. Deze twee functies zijn weliswaar anatomisch van elkaar gescheiden, doch functioneel nauw met elkaar verweven. FSH wordt gesecerneerd door dezelfde basofiele cellen in de hypofysevoorkwab die ook LH afscheiden. Evenals bij de vrouw wordt de secretie van beide hormonen door de hypofyse gereguleerd door pulsatiele afgifte van uit de hypothalamus afkomstig GnRH. Bij de man is het pulse interval met ongeveer 120 minuten wat langer dan bij de vrouw (90 minuten).

Fysiologie

In de volwassen testis wordt 95% van het volume ingenomen door de sterk geslingerde verloopende tubuli seminiferi die tot 70 cm lang zijn en eindigen in het zogenaamde rete testis. Bij de geboorte zijn deze buisjes gevuld met ongedifferentieerde cellen en slechts enkele spermatogoniën. Tussen het vierde en tiende levensjaar neemt het geslingerde verloop van de zaadbuisjes toe en wordt een verhoging van de delingsactiviteit waargenomen. Aan het begin van de puberteit wordt het kiemepitheel begrensd door een groot aantal steuncellen en nog slechts weinig spermatogoniën, doch bij het voortschrijden is er een toeneming van het aantal spermatogoniën en vindt transformatie van de steuncellen tot rijpe Sertolicellen plaats met wijde vertakking van deze cellen. In dit stadium zijn vele spermatocyten aanwezig die zich delen tot spermatiden. Tijdens het proces van kiemcelvernieuwing ondergaan de diploïde type-A-spermatogoniën -die een bleke chromatinestructuur hebben ('A pale' of Ap-spermatogoniën) en tegen de basale membraan van de tubuli zijn gelegen- een zestal mitotische delingen. Hierdoor worden de stamcellen aangevuld via type-B-spermatogoniën en worden de tetraploïde primaire spermatocyten gevormd (figuur 6).



Figuur 6. Spermato- en spermiogenese in de testis; n = aantal chromosomen (uit: Rolland *et al*, 1985).

De rol van de vrij inactieve Ad-(dark)spermatogoniën in dit proces is bij de mens althans nog niet duidelijk. Tijdens de lange profase (ongeveer 26 dagen) van de eerste reductiedeling, waarbij de diploïde secundaire spermatocyten ontstaan, verandert de chromatineconfiguratie van de primaire spermatocyten van draadachtig (leptoteen) tot dik en plomp (pachyteen). De secundaire spermatocyten is slechts een kort leven beschoren. In de tweede reductiedeling worden zij tot haploïde spermatiden omgevormd, waarna tijdens de spermiogenese de metamorfose tot spermatozoën plaatsvindt. Na afscheiding in het lumen van de zaadbuisjes worden de zaadcellen in de door de Sertolicellen geproduceerde vloeistofstroom naar het caput epididymis vervoerd, waarin verdere rijping plaatsvindt in een testosteronrijk milieu. Tijdens de passage door de epididymis worden de tot dan onbeweeglijke spermatozoën mobiel.

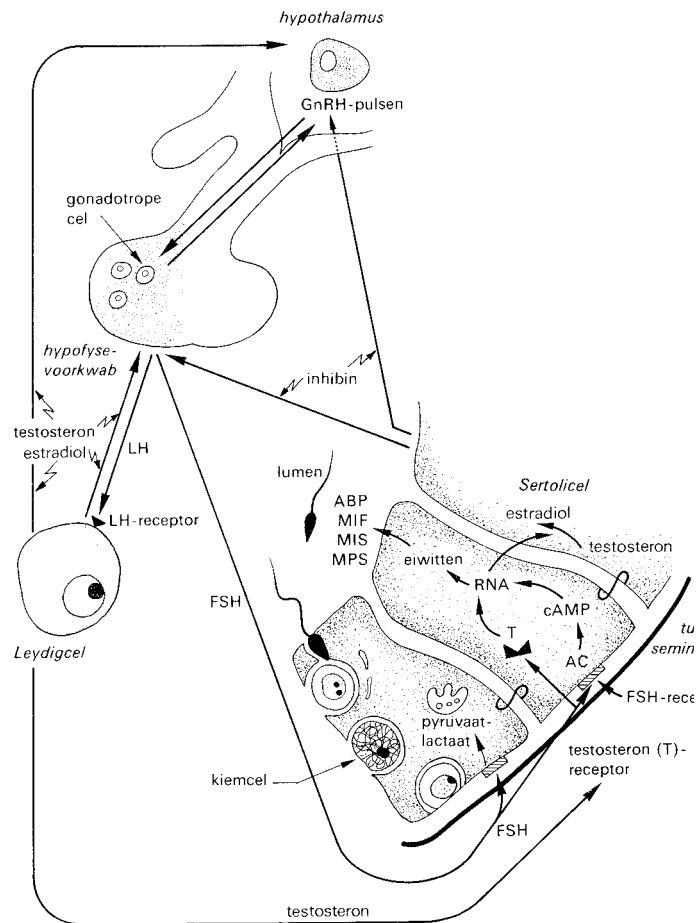
De gehele duur van de spermatogenese van bleke A-spermatogoniën tot rijpe zaadcel bedraagt 10 tot 12 weken.

De rol van de Sertoliceel

De ruggegraat van de tubuli seminiferi wordt gevormd door de Sertoliceellen die samen met de spermatogoniën de enige cellen zijn die rusten op de basale membraan. Alle andere kiemcellen liggen ingebed in de boomvormig vertakte Sertoliceellen (daarom ook wel 'nurse cells' genoemd). Rond de puberteit vormen de Sertoliceellen gespecialiseerde verbindingen met elkaar via cytoplasmatische uitlopers, die het kiemepitheel verdelen in een basaal compartiment waarin de spermatogoniën en (pre-)leptotene primaire spermatocyten zijn gelegen, en een naar het lumen gericht compartiment waarin de latere stadia van de kiemcellen liggen. De bloed-testis-barrière beschermt de unieke micro-omgeving waarin de reductiedelingen en rijping van de kiemcellen plaatsvinden, tegen schadelijke noxen van buitenaf. Alleen bij de overgang van de vroege spermatocyten van het basale naar luminale compartiment is een tijdelijke verbreking van de barrière noodzakelijk. Hierbij speelt vermoedelijk een door de Sertoliceel geproduceerd protease (plasminogeen-activator) een rol.

De Sertoliceel heeft echter nog andere belangrijke functies, zoals fagocytose van beschadigde kiemcellen, voeding van rijpende kiemcellen door middel van vorming van lactaat en pyruvaat (figuur 7), en productie en handhaving van een kalium-en bicarbonaatrijk, en natrium- en chloride-arm vloeistofmilieu, waarin de spermatozoën naar de epididymis worden vervoerd.

Ook worden in de Sertoliceel unieke eiwitten geproduceerd zoals de Müllerian Inhibiting Factor, het transporteiwit *Androgen Binding Protein* (ABP) dat een testosteron- en dihydrotestosteronrijk milieu in de zaadbuisjes en epididymi waarborgt, inhibine en *Meiosis Inducing- en Meiosis Preventing Substances* (MIS, MPS). Ook vindt in de Sertoliceel omzetting van voorlopers van androgenen tot estradiol plaats, waarvan de betekenis echter nog niet bekend is. Vele van genoemde processen (productie van ABP, inhibine, lactaat, pyruvaat) staan onder invloed van FSH en androgenen, waarvoor receptoren in de Sertoliceellen (en spermatogoniën) zijn aangetoond. Behalve door deze basale regulatie door middel van FSH en androgenen, wordt de functie van de Sertoliceel ook beïnvloed door de nabijgelegen kiemcellen. Onmiddellijk voorafgaand aan de eerste reductiedeling wanneer de concentratie van testosteron maximaal is, blijkt de productie van MIS, ABP en plasminogeen-activator door de Sertoliceel het hoogst.



Figuur 7. De hypothalamus-hypofyse-testis-as en de functies van de Leydig- en Sertoliceel (uit: Rolland et al, 1985).

De rol van FSH en LH bij de spermatogenese

Voor een adequate spermatogenese is de invloed van LH en FSH beide onontbeerlijk. LH speelt via een stimulerende invloed op de productie van testosteron door de Leydigcel een essentiële rol bij de initiëring en handhaving van de spermatoïdenproductie. LH garandeert de hoge spiegels van testosteron binnen de tubuli seminiferi die nodig zijn voor de kiemcelrijping. Testosteron is noodzakelijk voor de deling van de spermatoïden en het voltooien van de reductiedeling. Selectieve uitschakeling van LH (en daardoor testosteron) bij de volwassen rat, door middel van actieve of passieve immunisatie, leidt tot vermindering van de productie van ABP en ernstige verstoring van de spermatogenese.

FSH is eveneens noodzakelijk voor de initiëring van de spermatogenese. FSH

bindt aan membraanreceptoren in Sertolicellen en spermatogoniën, stimuleert de productie van ABP en garandeert de rijping van de spermatiden. Bij volwassen apen en de mens leiden actieve en passieve immunisatie tegen FSH tot een sterk verminderde spermatogenese met optreden van oligo- en zelfs azoöspermie. Volledige onderdrukking van de FSH-spiegel door middel van toediening van testosteron in het kader van onderzoek naar hormonale anticonceptie bij de man, leidde bij gezonde kaukasische mannen in 20% van de gevallen niet tot azoöspermie, maar slechts tot ernstige oligozoöspermie. Aangenomen wordt dat dit ook genetisch bepaalde fenomeen (het treedt niet op bij Aziatische mannen) te maken heeft met de hoogte van de intratesticulaire testosteronspiegels.

Uit waarnemingen bij patiënten bij wie de hypofysefunctie is uitgeschakeld, blijkt ook dat zowel FSH als LH noodzakelijk zijn voor een normale spermatogenese. Hypofysectomie leidt bij de mens binnen enkele maanden tot jaren tot atrofie van de tubuli seminiferi met verdwijnen van alle kiemcellen tot het spermatogoniënstadium. Compleet herstel van de spermatogenese is dan alleen mogelijk wanneer zowel LH als FSH wordt toegediend.

Wanneer echter nog enige restactiviteit van FSH aanwezig is, zoals ook bij het 'fertiele eunuch syndroom' het geval is, kan ook toediening van LH (hCG) of testosteron alleen tot een volledig herstel van de productie van spermatozoën aanleiding geven.

REFERENTIES

Rolland R, Ubachs JMH en Heineman MJ. Fertilitiestoornissen. Wetenschappelijke Uitgeverij Bunge Utrecht (1985) pp 16-26, en 159-166.

Speroff L, Glass RH en Kase NG. Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility. 6th edition, Lippincott Williams & Wilkins (1999) pp 203 en 209.

DR AP SAM



Tom Sam (Zwolle, 1952) is sinds 1996 werkzaam als Director CMC – Product Development op de afdeling Regulatory Affairs Europe van NV Organon te Oss. Hiervoor was hij Sectieleider Vaste Doseringsvormen en vervolgens Sectieleider Nieuwe Doseringsvormen van Organon's Farmaceutische R&D Labs. In die hoedanigheid was hij nauw betrokken bij de farmaceutische ontwikkeling van Organon's langwerkende

contraceptieve systemen Implanon® en NuvaRing®.

Tom heeft Biochemie en Fysische Chemie gestudeerd in Leiden, alwaar hij ook gepromoveerd is. Tevens is hij Master in Business Management (Univ. Twente).

Naast een 30-tal biochemische, fysisch-chemische, farmaceutische, biofarmaceutische en regulatoire publicaties staan ook een aantal patenten op zijn naam. Hij is mede-organisator van het tweejaarlijkse European Symposium on Controlled Drug Delivery in Noordwijk. Daarnaast modereert hij de CMC-module van de European Regulatory Affairs cursus van het SIR Pharma Policy Institute. Van 2000 t/m 2004 was hij voorzitter van de Nederlandse Vereniging voor Farmaceutische Wetenschappen. In 2004 is hij voor 4 jaar herkozen tot president van de Industrial Pharmacy Section van de International Pharmaceutical Federation (FIP), dat in Cairo haar 50-jarig bestaan zal vieren (www.ips50years.org). Tom participeert in de Expert Committee on Specifications of Pharmaceutical Preparations van de WHO, een commissie die tot doelstelling heeft om wereldwijd de kwaliteit van geneesmiddelen te bevorderen.

tom.sam@organon.com

AP Sam

Sinds de introductie van de hormonale contraceptiva in het begin van de zestiger jaren van de vorige eeuw zijn de gecombineerde orale contraceptiva (OC) de eerste keus voor veel vrouwen. De 'pil' combineert een progestageen met een oestrogeen steroid en het standaardregime is 21 dagen eenmaaldaags slikken gevolgd door 7 dagen pauze, waarin een onttrekkingsbloeding kan plaatsvinden. De werking van combinatiepillen berust op ovulatie remming, het tegengaan van de rijping van de eicellen. Veel van de activiteit om verbeterde orale contraceptiva te ontwikkelen was gericht op het optimaliseren van de gebruikte progestagenen en oestrogenen en het verlagen van de doses. Belangrijkste verbetering was het verminderen van de bijwerkingen door verlaging van het oestrogeengehalte tot onder de 50 µg: de ontwikkeling van de sub-50 pil.

Naast de combinatiepreparaten werden ook tabletten met alleen progestageen ontwikkeld, de zogenaamde 'progestogen-only pil' (POP), ook wel minipil genoemd. Deze pil heeft als nadeel dat ze een nog betere slikdiscipline vereist: iedere dag een tablet op dezelfde tijd.

De werking van de minipil berust vooral op het feit dat ze het binnendringen van de zaadcellen in de baarmoeder voorkomt. In tegenstelling tot combinatiepillen kan de minipil worden gebruikt door vrouwen die geen oestrogenen verdragen en door vrouwen die borstvoeding geven. Een nadeel van 'progestogen only' preparaten is dat vaginaal bloedverlies kan gaan optreden met onregelmatige tussenpozen. Ook bestaat er de kans dat de bloedingen helemaal uitblijven.

Ook aan de traditionele contraceptiemethodes kleven nadelen. Ontevredenheid met de bestaande methodes en inconsistent of onjuist gebruik kan leiden tot ongewenste zwangerschappen. Het succes van de orale contraceptieve pil, de meest wijdverspreide reversibele contraceptieve methode, bleek sterk afhankelijk van de dagelijkse therapietrouw. In een specifieke studie bleek dat ongeveer 47 procent van de OC-gebruiksters de pil een of meerdere keren per cyclus vergat en 22 procent vergat de pil zelfs twee of meer keer. Bij het ontwerpen van nieuwe contraceptieve methodes heeft men geprobeerd het bijwerkingenprofiel van de oudere methodes te verbeteren en tegelijkertijd een toedieningsvorm te kiezen waarvoor geen dagelijkse therapietrouw is vereist. Door gebruik te maken van niet-orale routes bleek het mogelijk om contraceptiva te ontwikkelen die een week, een maand of zelfs enkele jaren werkzaam zijn. Diverse langwerkende systemen zijn nu geregistreerd en worden reeds enkele jaren voorgeschreven. De resultaten wijzen erop dat deze langwerkende preparaten inderdaad in een behoefte voorzien. Zij geven de vrouw meer keuzemogelijkheden om een bij haar passende

contraceptieve methode te vinden.

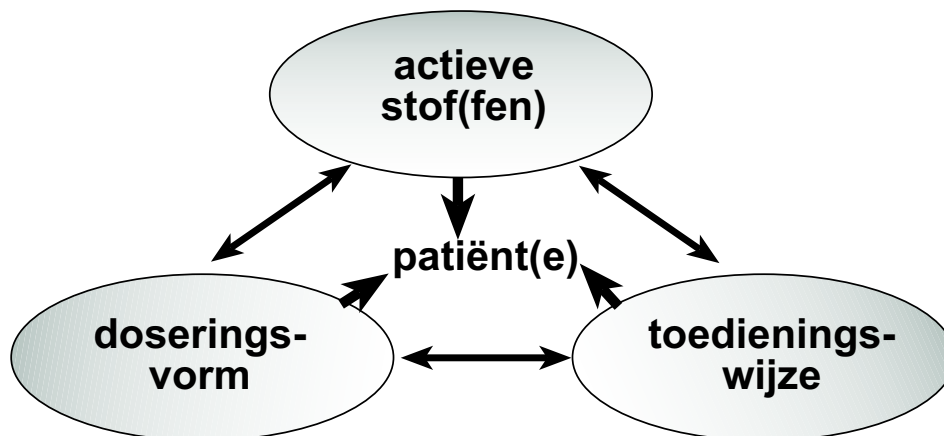
Hieronder wordt een overzicht gegeven van de belangrijkste langwerkende contraceptieve systemen (zie ook tabel 1), waarbij de nadruk wordt gelegd op hun ontwikkeling, de fysische principes waarop de afgifte is gebaseerd, en op biofarmaceutische aspecten. Kennis van deze zaken moet het de apotheker mogelijk maken om gebruiksters van deze systemen beter voor te lichten.

Tabel 1. Langwerkende contraceptieve systemen (vetgedrukt zijn preparaten die op de Nederlandse markt beschikbaar zijn).

	Type preparaat	Voorbeelden	Progestageen/oestrogeen (dosis)	Afgifte / afgifte duur
Progestageen/ oestrogeen combinatie	intramusculaire depot-injectie	Lunelle®	medroxyprogesteronacetaat / estradiolcypionaat (25 mg / 5 mg)	1 maand
	transdermale pleister	Evra®	norelgestromin 6,0 mg / ethinylestradiol 0,60 mg)	150 µg/dag resp. 20 µg/dag gedurende 1 week
	vaginale ring	NuvaRing®	etonogestrel 11,7 mg / ethinylestradiol 2,7 mg	120 µg/dag resp. 15 µg/dag gedurende 3 weken
Progestageen 'only'	intramusculaire depot-injectie	Depo-Provera® -150	medroxyprogesteronacetaat (150 mg)	12 weken
	subdermaal implantaat	Norplant®	levonorgestrel (6 x 36 mg)	start bij ongeveer 85 µg/day; 50 µg/dag na 9 maanden; ongeveer 35 µg/day na 18 maanden met een verdere daling naar ongeveer 30 µg/day na 5 jaar.
		Jadelle®	levonorgestrel (2 x 75 mg)	ongeveer 100 µg/dag na 1 maand; ongeveer 40 µg/ dag na een jaar; ongeveer 25 µg/dag na 5 jaar
		Implanon®	etonogestrel (68 mg)	60 – 70 µg/dag in week 5 – 6; 35 – 45 µg/dag na 1 jaar; 30 – 40 µg/dag na twee jaar en 25 – 30 µg/ dag na 3 jaar
	intra-uterien systeem	Mirena®	levonorgestrel (52 mg)	20 µg/dag gedurende 5 jaar

HET PRINCIPE VAN DE THERAPEUTISCHE DRIE-EENHEID

Een model om naar de ontwikkeling van nieuwe toedieningsystemen te kijken, is dat van de therapeutische drie-eenheid (zie figuur 1). Het is gebaseerd op het besef, dat geen enkel geneesmiddel optimaal functioneert als de actieve stof, de doseringsvorm en de toedieningswijze niet goed op elkaar zijn afgestemd. De ontwikkeling van het geneesmiddel moet er op gericht zijn deze onderdelen in samenhang te ontwikkelen totdat voor de patiënt de optimale verhouding bereikt wordt tussen risico en therapeutisch voordeel. Randvoorwaarden voor ontwikkeling zijn medische, economische en technologische haalbaarheid.



Figuur 1. Het geneesmiddel kan worden beschouwd als een therapeutische drie-eenheid van actieve stof, doseringsvorm en toedieningswijze (Sam, 2003). De drie elementen van de therapeutische drie-eenheid moeten zodanig op elkaar afgestemd zijn, dat een optimale combinatie ontstaat, die aansluit bij de individuele behoeftes en wensen van de patiënt.

Voorbeelden van langwerkende contraceptieve systemen zijn intra-uteriene systemen, subdermale injecties en implantaten, transdermale pleisters en vaginale ringen. Voor ieder van deze systemen heeft de ontwikkelaar de actieve stof, de doseringsvorm en de toedieningswijze moeten optimaliseren. Door een keuze te maken voor een bepaalde toedieningsroute worden enerzijds biofarmaceutische beperkingen opgelegd aan de toedieningswijze en doseringsvorm, maar blijven er anderzijds nog altijd volop vrijheidsgraden over, zoals hieronder zal worden besproken.

PRINCIPES VAN GEREGULEERDE AFGIFTE

Het reservoirsysteem

Om langwerkende systemen te verkrijgen moeten actieve stoffen langzaam en gecontroleerd in de systemische circulatie terecht komen. Een veel gebruikt ontwerp is dat van het reservoirsysteem (figuur 2).



Figuur 2. Een transdermaal toedieningssysteem van het reservoirtype. Door het membraan kan duidelijk de oplossing worden gezien, waarin de actieve stof in opgeloste vorm aanwezig is.

Als gevolg van het concentratieverschil tussen reservoir en lichaam diffundeert de actieve stof het lichaam in, maar de diffusiesnelheid wordt vertraagd en gereguleerd doordat de stof het reservoir verlaat via een snelheidsbepalend membraan.

Voor diffusie van een molecuul door een homogeen dicht membraan kan de volgende vergelijking worden afgeleid uit de eerste wet van Fick:

$$Q(t) = \frac{O \cdot P \cdot \Delta C \cdot t}{L} \text{ waarin } P = D \cdot K$$

Hierbij is:

Q(t): de afgegeven hoeveelheid

t: de tijd

P: de permeabiliteit van het membraan voor het diffunderende molecuul

D: de diffusiecoëfficiënt, een maat voor de mobiliteit van de individuele moleculen in het membraan

K: de partiticoëfficiënt tussen oplossing en membraan

ΔC : het concentratieverschil tussen de oplossingen aan beide kanten van het membraan

O: het oppervlak van het membraan

L: de dikte van het membraan

Bovenstaande vergelijking laat zien dat de afgifte recht evenredig is met het oppervlak van het reservoirsysteem en omgekeerd evenredig met de dikte van het membraan. Voor een gegeven actieve stof wordt de permeabiliteit bepaald door het gebruikte membraanpolymeer. Het reservoirsysteem heeft als belangrijk voordeel dat de actieve stof constant wordt afgegeven zolang het concentratieverschil tussen reservoir en het buitenmedium constant blijft.

Het matrixsysteem

Technologisch veel simpeler en goedkoper te vervaardigen dan het reservoirsysteem is het matrixsysteem. Het wordt gevormd door actieve ingrediënt te mengen met een polymeer, soms in aanwezigheid van een oplosmiddel dat dan later weer moet worden verwijderd. Een nadeel van het systeem is dat de afgifte niet constant is, maar bij benadering evenredig is met $t^{1/2}$. Uit ervaring is echter gebleken, dat ook met de simpeler matrixsystemen dikwijls goede resultaten bereikt kunnen worden. In de praktijk zijn diverse ‘controlled-release’ systemen een soort mengvorm, waarbij de afgifte gereguleerd wordt door een matrix in combinatie met een snelheidsmodulerend membraan. In het geval van transdermale matrixsystemen neemt de huid zelf veel van de snelheidsregulerende functie van het systeem over. Daarom speelt in zo’n geval de samenstelling en conditie van de huid een belangrijke rol: de afgifte wordt niet door het systeem opgelegd.

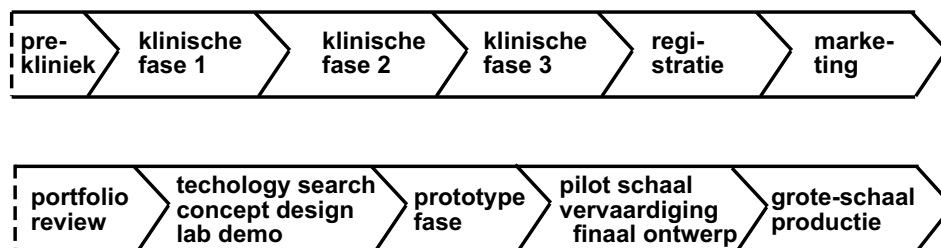
Naast bovenstaande systemen zijn ook gecontroleerde afgiftesystemen ontwikkeld die gebaseerd zijn op erosie, chemische degradatie, enzovoorts. Geschiktheid van dit soort systemen hangt onder andere af van gebruikte routes en materialen.

Gebruikte polymeren

Gecontroleerde afgiftesystemen, zoals implantaten en transdermale systemen, maken gebruik van diverse eigenschappen van polymeren, waaronder hun verwerkbaarheid en functie als membraan, als oplosmiddel voor actieve ingrediënten, of als kleefmiddel. Een voorwaarde voor gebruik van polymeren is dat deze lichaamsvriendelijk en biocompatibel zijn. De gebruikte kwaliteiten van deze polymeren voldoen aan de hoogste eisen, en de polymeren worden daartoe uitgebreid getest in toxicologische en carcinogeniteitsstudies. Voorbeelden van geschikte polymeren zijn polydimethylsiloxaan (Silastic®), ethyleenvinylacetaat copolymeer (EVA) en polybutyleen.

ONTWIKKELING VAN GEREGULEERDE AFGIFTE SYSTEMEN

Een fabrikant die zich heeft voorgenomen om een geheel nieuwe toedieningsvorm voor een actieve stof te ontwikkelen, moet zich realiseren dat het hier eigenlijk een dubbele ontwikkeling betreft. Naast het normale ontwikkelingstraject voor de actieve stof komt een tweede traject waarin niet alleen de doseringsvorm wordt ontwikkeld, maar soms ook het proces en de apparatuur om deze doseringsvorm te produceren (figuur 3).



Figuur 3. Nieuwe toedieningsvormen vragen veelal een ingewikkelde en tijdrovende parallele ontwikkeling van geneesmiddel en toedieningssysteem.

Een voorbeeld: in het geval van het contraceptivum NuvaRing[®] werd niet alleen de progestagene stof etonogestrel ontwikkeld om te gebruiken in combinatie met het oestrogeen ethinylestradiol, maar werd tevens de co-extrusietechniek en apparatuur voor dit soort toepassingen vanaf de tekentafel ontwikkeld. Organon produceert NuvaRing[®] nu in haar eigen fabriek, die daartoe is goedgekeurd door de FDA.

Andere fabrikanten hebben de keuze gemaakt om de ontwikkeling en/of productie uit te besteden aan een ervaren ontwikkelaar of loonfabrikant, met als voorbeeld de Evra[®]-pleister die niet door Johnson & Johnson zelf maar door derden wordt geproduceerd. Welke keuze hierin ook wordt gemaakt, het ontwikkelen van een commercieel succesvol ‘controlled-release’ systeem is een uitdaging die slechts weinig farmaceutische industrieën goed aankunnen.

Niet altijd worden alle onderdelen van het afgiftesysteem helemaal vanaf *scratch* ontwikkeld. Een voorbeeld zijn de actieve stoffen, die reeds als zodanig of in gemodificeerde vorm in bestaande marktpreparaten aanwezig zijn. De modificaties dienen dan bijvoorbeeld om met behoud van de actieve werking aan het moleculair geschiktere fysisch-chemische eigenschappen mee te geven, zodat bijvoorbeeld hogere diffusiesnelheden en dus hogere serumspiegels bereikt kunnen worden. Etonogestrel, 3-ketodesogestrel, het progestageen gebruikt in NuvaRing[®] en Implanon[®], is de biologisch actieve metaboliet van desogestrel. Desogestrel is een progestageen gebruikt in veel orale contraceptiva. Een soortgelijke situatie bestaat voor norelgestromin, de progestagene stof in de Evra[®]-pleister. Norelgestromin is de primaire actieve metaboliet van norgestimaat, gebruikt in orale contraceptiva.

Een ander voordeel van de systemische, langwerkende preparaten vergeleken met de orale contraceptiva is dat ze het ‘first-pass’-effect van de lever en van het maag-darmkanaal vermijden.

LANGWERKENDE CONTRACEPTIEVE SYTEMEN

Injecteerbare suspensie

Een klassiek en relatief goedkoop systeem voor het verkrijgen van gereguleerde

afgifte is dat van een kristalsuspensie die via een intramusculaire injectie wordt toegediend. De matrix waarin de suspensie wordt gedeponereerd is het spierweefsel. De snelheidsbepalende stap is de oplosbaarheid van de slecht oplosbare steroïdkristallen. De deeltjesgrootte is belangrijk, omdat in theorie de oplosbaarheid van een deeltje recht evenredig is met zijn oppervlakte (Noyes-Whitney-benadering van de filmtheorie voor dissolutie). Daarnaast wordt de oplosbaarheid bepaald door het verschil in oplosbaarheid en de actuele concentratie in het medium. De gemiddelde deeltjesgrootte en de deeltjesgrootteverdeling van de suspensie is daarom een variabele die uitermate goed in het bereidingsproces moet worden gecontroleerd.

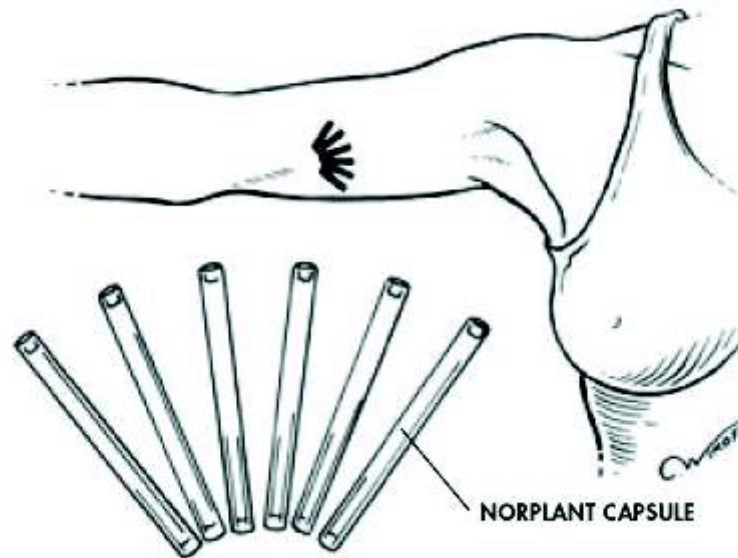
Het klassieke preparaat, sinds 1973 in Nederland geregistreerd, is Depo-Provera[®]-150. Het bevat 150 mg van het progestogeen medroxyprogesteronacetaat, dat diep in de bilspier of eventueel in de bovenarm wordt geïnjecteerd. Andere bestanddelen zijn polysorbaat 80, methylparahydroxybenzoaat, propylmethylhydroxybenzoaat, macrogol 4000, natriumchloride en water voor injecties. Depo-Provera[®] werkt 12 weken; de afgifte uit het injectiedepot is zelfs bij benadering niet constant.

In geval van Lunelle[®], niet op de Nederlandse markt, bestaat het depotpreparaat uit een maandelijks te injecteren suspensie van 5 mg medroxyprogesteronacetaat in combinatie met 25 mg estradiolcypionaat. Andere bestanddelen zijn polysorbaat 80 (0.95 mg), methylparahydroxybenzoaat (0.9mg), propylmethylhydroxybenzoaat (0.1 mg), polyethyleenglycol (macrogol 4000, 14.28 mg), natriumchloride (4.28 mg) en water voor injecties. De dagelijkse afgifte is ook hier niet constant en daalt na een initiële piek met ongeveer een factor drie.

Subdermale implantaten

Het contraceptivum Norplant[®] (zie figuur 4), niet aanwezig op de Nederlandse markt, bestaat uit zes capsules van het siliconenpolymeer Silastic[®], elk gevuld met 36 mg levonorgestrel in kristalvorm. De dimensie van de capsules is 34 x 2.4 mm. De 6 capsules worden met een trocar (een medisch instrument met een holle schacht voorzien van een scherpe punt) in een halve cirkel aan de binnenkant van de bovenarm van de vrouw geplaatst. Deze procedure kost ongeveer 10 minuten, maar verwijdering 15 minuten en soms zelfs langer. Na oplossen in, en diffusie door het Silastic[®]-membraan komt de levonorgestrel in de systemische circulatie terecht, en werkt dus verder net als een een oraal progestageen, met dien verstande dat in eerste instantie passage door de lever wordt vermeden. De dagelijkse levonorgestrelafgifte uit een enkel staafje is niet voldoende.

Zes staafjes zijn nodig om voldoende hoge plasmaspiegels te bereiken om contraceptieve werking gedurende 5 jaar te garanderen.



Figuur 4. Het contraceptivum Norplant® (niet op de Nederlandse markt) bestaat uit zes Silastic®-buisjes gevuld met levonorgestrel in kristalvorm. Deze worden geplaatst in de bovenarm.

De opvolger van Norplant®, Jadelle®, welk wel op de Nederlandse markt is, bestaat uit slechts 2 identieke staafjes van 43 x 2.5 mm met elk 75 mg levonorgestrel, waardoor subdermale plaatsing efficiënter kan plaatsvinden. De twee Jadelle® staafjes worden in de vorm van een V geplaatst met behulp van een wegwerpapplicator. De gemiddelde verwijderingsstijd is 5 minuten. Het ontwerp is aangepast ten opzichte van Norplant®. De kern van de staafjes bestaat hier uit levonorgestrel gesuspendeerd in een Silastic®-matrix met daar omheen wederom een Silastic®-membraan. Jadelle® bevat in de Silastic®-matrix ook nog colloïdale watervrije silica als vulstof. Het nieuwe ontwerp zorgt voor voldoende afgifte om gedurende vijf jaar tegen zwangerschap te kunnen beschermen. De variabelen die de afgifte bepalen zijn de dimensies van het systeem, de oplosbaarheid in het polymeer en de membraandikte.

Implanon® is een subdermaal preparaat dat uit slechts 1 staafje van 4 cm lengte en 2 mm diameter bestaat en dat geplaatst in een applicator wordt afgeleverd (zie figuur 5).

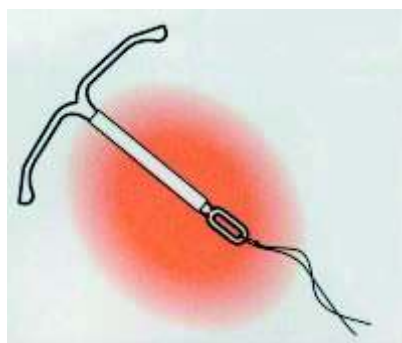


Figuur 5. Implanon® in applicator tesamen met *reminder card* en bijsluiter.

Het staafje bevat 68 mg etonogestrel in de EVA-kern, die over de lengte-as wordt bedekt door een EVA-membraan. Het gebruikte productieproces is co-extrusie gevolgd door afsnijden op 4 cm lengte, met als gevolg dat de beide uiteinden niet zijn afgedicht. Hier is dus niet zozeer sprake van een zuiver reservoirsysteem, maar van een hybride tussen matrix- en reservoirsysteem. De bijdrage van de matrixafgifte via de uiteinden is echter al gauw verwaarloosbaar. Net als bij Norplant® en Jadelle® moet het implantaat door een getrainde arts onderhuids onder lokale verdoving aan de binnenkant van de bovenarm worden geplaatst. Plaatsing van Implanon® is echter sneller dan bij de andere preparaten en kost slechts ongeveer 1 minuut. Verwijdering na incisie kost minder dan 3 minuten.

Intra-uterien Systeem (IUS)

Het intra-uteriene systeem Mirena® bestaat uit een Silastic®-cilinder om de lange as van een T-vormig polyethyleenframe (zie figuur 6).



Figuur 6. Het intra-uteriene systeem Mirena®.

Het ontwerp en de gebruikte materialen van het gecontroleerde afgiftesysteem zijn analoog aan dat van Jadelle[®], met dien verstande dat het T-lichaam gebruikt wordt om dit systeem langdurig in de uterus te kunnen houden. De cylinder bevat in de kern Silastic[®]-elastomeer met daarin 52 mg levonorgestrel met daaromheen een slang van Silastic[®] Medical Tubing dat als membraan fungeert. Aan het T-vormig deel is 20-24% bariumsulfaat toegevoegd, waardoor zonodig met Röntgenapparatuur gecontroleerd kan worden of het IUS nog goed op zijn plaats zit. Mirena geeft gedurende een periode van 5 jaar circa 20 µg/dag rechtstreeks aan de uterus af. Het werkingsmechanisme is hoofzakelijk gebaseerd op plaatselijke effecten van levonorgestrel op het endometrium, het voorkomen van proliferatie van het endometrium. Bij sommige vrouwen treedt tevens onderdrukking van de ovariële functie op en ook speelt verdikking van de cervicale mucus waarschijnlijk een rol als contraceptief mechanisme.

Transdermale pleister

De contraceptieve pleister Evra[®] heeft een oppervlak van 20 cm² en bevat 6.0 mg van het progestageen norelgestromin en 0.60 mg van het oestrogeen ethinylestradiol. De zelfklevende pleister wordt één keer per week steeds op een andere plek op de huid gekleefd en dit gedurende drie achtereenvolgende weken. Tijdens de vierde week wordt geen pleister gebruikt, en nu treedt een onttrekkingsbloeding op. Ook in deze week is de vrouw volledig beschermd tegen zwangerschappen, net als bij de OC's. Evra[®] is een pleister van het matrixtype en wordt geproduceerd in een viertal stappen. Na het mengen van de ingrediënten worden deze aangebracht op een film, gedroogd en voorzien van een tweede beschermlaag. Na controle van het finale laminaat worden de pleisters als afgeronde rechthoekjes van 4,5 x 4,5 cm uitgeponst (zie figuur 7) en verpakt. De geproduceerde pleister bestaat uit drie lagen. De grondlaag bestaat uit een beige flexibele film van lage-dichtheidpolyethyleen met daarop een polyester binnenlaag die zorgt voor structurele versteviging en bescherming van de middelste kleeflaag. De middelste laag vormt de matrix en bevat naast de twee actieve stoffen, lauryllactaat als penetratiebevorderaar, polyisobutyleen/polybutyleen als kleefstof, crospovidone, en een non-woven polyesterstructuur. De verwijderbare derde laag bestaat uit een transparante polyethyleentereftalaatfilm met aan de binnenkant een polydimethylsiloxaancoating (Silastic[®]).



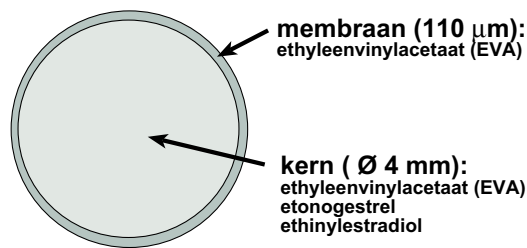
Figuur 7. Nieuwe toedieningsvormen vragen nieuwe productiewijzen: productie van transdermale systemen van het matrixtype. De pleisters zijn hier reeds gestanst en gereed om te verpakken.

De afgifte vanuit de Evra[®]-matrix wordt mede bepaald door de snelheidsregulerende werking van de huid. Evra[®] levert een nominale afgifte van 150 µg norelgestromin/dag en 20 µg ethinyloestradiol/dag. De afgifte is bij benadering constant gedurende 1 week, zodat met drie opeenvolgende pleisters gedurende een aaneengesloten periode van 3 weken voldoende hoge spiegels worden bereikt.

Vaginale ring

De anticonceptivering NuvaRing[®] is een doorzichtige en buigzame ring, met een doorsnede van zo'n 5 centimeter. De ring kan door de gebruikster eenvoudig elke maand zelf in de vagina worden gebracht en ze kan hem na drie weken simpel weer verwijderen.

Ook NuvaRing[®] is een combinatiepreparaat. Het bevat in de kern van de ring 11.7 mg etonogestrel en 2.7 mg ethinylestradiol (figuur 8). De steroïden zijn opgelost in een EVA-matrix, die omgeven wordt door een EVA-membraan van een andere samenstelling. De hormonen worden via de vaginale slijmvliezen rechtstreeks in het bloed opgenomen. De dagelijkse afgifte is bij benadering constant over een periode van 3 weken en bedraagt 120 µg etonogestrel/dag en 15 µg ethinyloestradiol/dag. Het fabricageproces van NuvaRing[®] is bijzonder. Via een zogenaamd co-extrusieproces worden bij hoge temperatuur tegelijk de kern en huid van een coaxiale vezel gevormd, waarna deze vezel op lengte wordt gesneden en gesloten tot een ring. Daarna wordt deze verpakt in een hersluitbaar sachet, waarin de ring na gebruik kan worden teruggedaan.



Figuur 8. Dwarsdoorsnede van NuvaRing®. NuvaRing® is een reservoirsysteem met etonogestrel en ethinylestradiol opgelost in de EVA-kern.

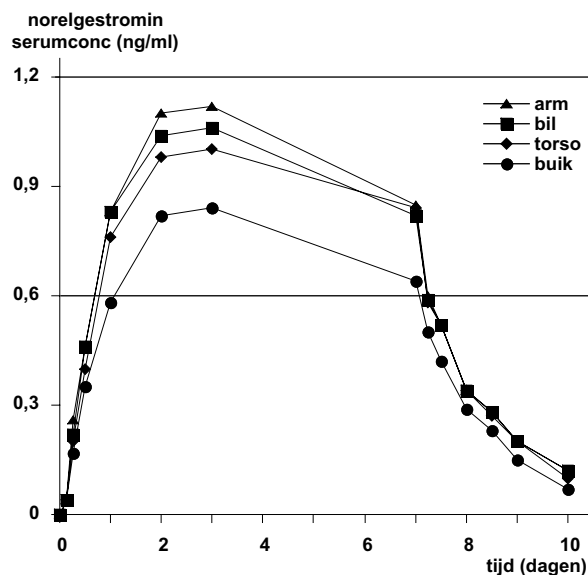
De gebruikte EVA-polymeren garanderen een goede flexibiliteit, zowel bij kamer- als bij lichaamstemperatuur, waardoor de ring eenvoudig is te plaatsen en te verwijderen. Nadat de ring drie weken is gebruikt, volgt een ringvrije periode van 7 dagen, waarin de vrouw haar onttrekkingsbloeding krijgt. Daarna wordt een nieuwe ring geplaatst. Ook tijdens de ringvrije periode is de vrouw volledig beschermd.

BIOFARMACEUTISCHE ASPECTEN

Bij de farmaceutische ontwikkeling van langwerkende preparaten moet rekening gehouden worden met een groot aantal aspecten. Een eerste punt van aandacht zijn de afgifteprofielen van het farmacon. Nagegaan moet worden of het systeem voldoende hoge plasmaspiegels van het farmacon kan genereren en of een constante afgifte gewenst of noodzakelijk is. Een ander belangrijk aspect is de zogenaamde biofarmaceutische robuustheid van het preparaat. Maakt het voor de effectiviteit of voor de bijwerkingen uit hoe en waar het langwerkende contraceptieve systeem precies geplaatst wordt? Bij een goed ontwikkeld systeem mag dat eigenlijk niet veel uitmaken. Binnen redelijke grenzen moet gevarieerd kunnen worden.

Bij een implantaat moet subdermale plaatsing met de meegeleverde hulpmiddelen zodanig uitgevoerd kunnen worden dat het implantaat altijd netjes vlak onder de huid terechtkomt. Dit is tevens van groot belang voor een accurate en snelle verwijdering van het implantaat aan het eind van de gebruikperiode, of eerder in geval van noodsituaties. Deze eis was een van de drijfveren voor ontwikkeling van Implanon® als een systeem bestaande uit slechts een enkel staafje. Juiste plaatsing en verwijdering is veel beter te beheersen met een simpel systeem als Implanon®, dan met een systeem met zes of zelfs twee staafjes.

Depotinjecties op basis van een kristalsuspensie leveren niet alleen een minder constant en daarom minder gewenst afgifteprofiel, maar zijn in noodsituaties zoals bij constatering van steroidafhankelijke tumoren of andere ongewenste serieuze bijwerkingen, niet direct te verwijderen. Tevens is bij dit type preparaten de periode langer waarbinnen vrouwen weer vruchtbaar zijn.



Figuur 9. Biofarmaceutische robuustheid van de Evra[®]-pleister met betrekking tot plaatsing op de huid. De lijnen geven de grenzen van therapeutische spiegels aan (Abrams L, et al. Clin Pharm & Ther 2000; 67:159).

Bij een pleister als Evra[®] is het van groot belang dat de pleister goed blijft zitten, dat er geen huidirritatie optreedt, maar ook dat het weinig of niets uitmaakt waar op de huid de pleister precies geplaatst wordt. Onderzoek heeft aangetoond dat de Evra[®]-pleister vrijwel overal op het lichaam kan worden geplaatst zonder consequentie voor de biologische beschikbaarheid (zie figuur 9), echter niet op de bovenbenen of op de borsten, omdat daar de vetlaag de systemische beschikbaarheid verlaagt. Welke plaats ook gekozen wordt, de pleister moet daar 7 dagen blijven zitten en mag tijdens de week niet van plaats worden veranderd. In de praktijk blijkt de pleister onder alle omstandigheden goed te kleven. Slechts 2.8 procent van de pleisters raakte gedeeltelijk en slechts 1.8 procent raakte helemaal los van de huid. Er lijkt een beperkte invloed van lichaamsinspanning op de afgifte te zijn.

Met betrekking tot de biofarmaceutische robuustheid van NuvaRing[®] bleek dat het voor de effectiviteit van NuvaRing[®] niet uit maakt hoe en waar deze in de vagina gepositioneerd wordt; de afgifte wordt niet beïnvloed door variatie in deze plaatsing.

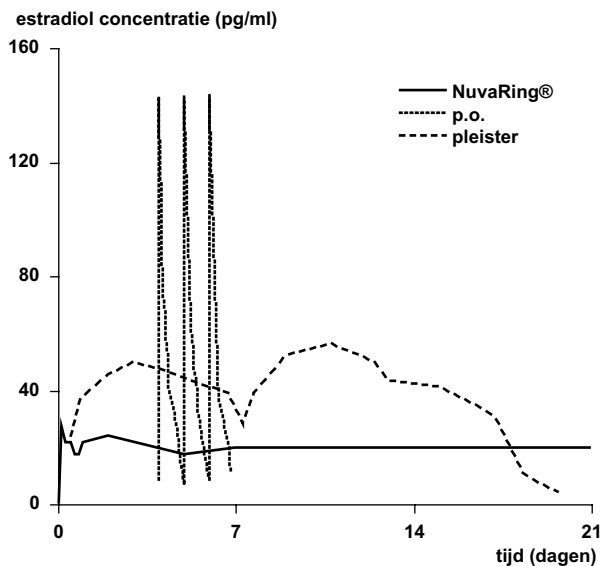
Andere belangrijke biofarmaceutische aspecten zijn de lokale interacties met andere stoffen of geneesmiddelen. Bij de ontwikkeling van NuvaRing[®] is aangetoond dat lokaal vaginaal gebruik van antimycotica geen nadelig effect heeft op de opname van etonogestrel en ethinylestradiol uit de ring.

KEUZE EN THERAPIETROUW

Zoals hierboven besproken geven de verschillende hormonale methodes de vrouw een heel scala aan mogelijkheden ten aanzien van gebruikte progestogenen, combinatie met estrogenen, werkingsduur, manier van toediening, enzovoorts. Gekozen kan worden voor dagelijkse, wekelijkse, driewekelijkse, maandelijkse, en zelfs drie- of vijfjaarlijkse preparaten. Deze verschillen leiden tot voor- en nadelen, die veelal door individuele gebruiksters anders gewogen zullen worden.

Een belangrijk aspect voor de acceptatiegraad van de methode is de gebruikte route, die dikwijls mede cultureel wordt bepaald. Dit geldt bijvoorbeeld voor de vaginale route. Ook discretie kan een belangrijk element vormen: is men tevreden met een pleister op een minder zichtbare plaats of streeft de gebruikster naar volledige discretie? Indien betrouwbaarheid de keuze bepaalt, dan kan een langwerkend implantaat of een langwerkend intra-uterien systeem een goede keuze zijn. Heeft men echter een aversie tegen de onregelmatige bloedingen zoals die op kunnen treden bij 'progestogen-only' systemen, dan zou men bijvoorbeeld kunnen kiezen voor een systeem als NuvaRing® dat een uitstekende cycluscontrole biedt.

Omdat sommige bijwerkingen van contraceptiva gecorreleerd zouden zijn aan de estrogeenbelasting van het lichaam is het goed nieuws dat met de nieuwe langwerkende systemen de ethinylestradiolpiekbelasting en zelfs soms de gemiddelde belasting flink verlaagd kan worden (figuur 10). Er zijn kortom veel gronden waarop het meest geschikte contraceptivum kan worden geselecteerd.



Figuur 10. Ethinylestradiol(EE)-concentratie bij gebruik van verschillende contraceptieve systemen (bron: diverse bijsluiters).

Indien gebruikt volgens de bijsluiter zijn alle moderne contraceptiva betrouwbare preparaten met een lage zogenoemde ‘Pearl index’ (tabel 2). De Pearl index geeft het aantal zwangerschappen aan dat, ondanks het toepassen van de methode, ontstaat bij 100 vrouwen die gedurende een jaar lang deze methode gebruiken. Gemakshalve kan de Pearl index ook gelezen worden als het percentage vrouwen, dat jaarlijks zwanger wordt. Veelal wordt naast de theoretische Pearl index bij het toepassen van de methode zonder gebruikersfouten ook de praktische Pearl index aangegeven.

Tabel 2. Percentage vrouwen dat ongewild zwanger wordt binnen het eerste jaar gebruik en percentage dat de methode na 1 jaar blijft gebruiken.

Contraceptiemiddel	Pearl Index bij gebruik in eerste jaar		Compliance (percentage dat na 1 jaar methode blijft gebruiken)
	Praktisch	Theoretisch	
Gecombineerde pil en minipil	8	0.3	68%
Evra®-pleister	8	0.3	68%
NuvaRing®	8	0.3	68%
Depo-Provera®	3	0.3	56%
Lunelle®	3	0.05	56%
Mirena®	0.1	0.1	81%
Norplant® en Norplant-2®	0.05	0.05	84%

Deze praktische Pearl index geeft aan welke betrouwbaarheid in de praktijk met de methode wordt bereikt. Bij methoden waarbij de gebruikster geen invloed op de betrouwbaarheid heeft, zoals bij Mirena® en Norplant®, zijn theoretische en praktische betrouwbaarheid gelijk of liggen dicht bij elkaar (Depo-Provera® en Lunelle®). Bij de overige methodes speelt de therapietrouw een belangrijke rol.

Een belangrijke voorwaarde voor goed gebruik en hoge therapietrouw is dat de vrouw een contraceptieve methode kiest die bij haar persoonlijkheid en leefwijze past. Vergelijking van de nieuwe langwerkende methodes met de orale contraceptiva laat zien dat zowel bij theoretisch als bij praktisch gebruik de betrouwbaarheid vergelijkbaar is (tabel 2).

TOEKOMST

Nieuwe hormonale systemen

Een ontwikkeling die relatief moeizaam van de grond komt, is een hormonale contraceptieve methode voor de man, de ‘mannenpil’. Er wordt weinig onderzoek naar gedaan, omdat het om historische en medische redenen makkelijker is om de contraceptie via de vrouw te regelen. Recent zijn Organon en Schering een haalbaarheidsstudie voor zo’n mannenpil gestart. Het betreft hier een combinatie van twee preparaten: een progestageen voor de contraceptieve werking en een testosteronpreparaat om lage endogene testosteronspiegels te supplementeren. Momenteel wordt in een fase 2-klinische studie een langwerkend subdermaal implantaat met etonogestrel getest in combinatie met driemaandelijkse testosterone steroïden.

VAN ‘COMPLIANCE’ NAAR ‘CONCORDANCE’

Contraceptie is bij uitstek een therapiegebied waar het van groot belang is dat er een goede dialoog bestaat tussen gebruiker en voorschrijver. Hierbij dient te worden meegenomen, dat Nederland een multiculturele samenleving heeft, waardoor ook culturele aspecten een belangrijke rol spelen. Voor een goede therapietrouw (‘compliance’) is het nodig dat gebruiker en arts/voorschrijver elkaar als gelijkwaardige partners zien (aangeduid met de term ‘concordance’), zodat een juiste individuele keuze kan worden gemaakt.

Aan dit beslissingsproces kan de farmaceutische industrie bijdragen door geschikte nieuwe contraceptiva te ontwikkelen en de bestaande steeds verder te verbeteren. De industrie dient daartoe deze contraceptiva te ontwikkelen in nauwe samenspraak met de gebruikers en voorschrijvers. Gestreefd moet worden naar die combinaties van gebruikte hormonen, doseringsvormen en toedieningswijzen waarbij een hoog gebruikersgemak en een goede therapietrouw centraal staan. Voor de apotheker is een belangrijke rol weggelegd om de keuze van de gebruiker voor een contraceptivum te ondersteunen via een goede kennis van de voorgeschreven contraceptieve systemen.

GESELECTEERDE PUBLICATIES

Archer DF, Bigrigg Alison, Smallwood GH, et al. Assessment of compliance with a weekly contraceptive patch (Ortho Evra/Evra) among North American women. *Fertil Steril* 2002; 77 : S27-S31.

Audet MC, Moreau M, Koltun WD, Waldbaum AS, Shangold G, Fisher AC, et al. Evaluation of contraceptive efficacy and cycle control of a transdermal contraceptive patch vs an oral contraceptive: a randomized controlled trial. *JAMA* 2001; 285: 2347-2354.

Bjarnadóttir RI, Tuppurainen M, Killick SR. Comparison of cycle control with a combined contraceptive vaginal ring and oral levonorgestrel/ethinyl estradiol. *Am J Obstet Gynecol* 2002; 186: 389-395.

French RS, Cowan FM, Mansour D, et al. Levonorgestrel-releasing (20 microgram/day) intrauterine systems (Mirena) compared with other methods of reversible contraceptives. *Brit J Obstet Gynaecol* 2000; 10: 1218-1225.

Rahimy MH, Ryan KK, Hopkins NK. Lunelle monthly contraceptive injection (medroxyprogesterone acetate and estradiol cypionate injectable suspension): steady-state pharmacokinetics of MPA and E2 in surgically sterile women. *Contraception* 1999; 60: 209-214.

Roumen FJ, Apter D, Mulders TM, Dieben TO. Efficacy, tolerability and acceptability of a novel contraceptive vaginal ring releasing etonogestrel and ethinyl oestradiol. *Hum Reprod* 2001; 16: 469-475.

Sam, AP. Optimising the therapeutic trinity of active ingredient, delivery system and functional packaging, *J Contr Rel* 2003; 87: 153 – 157.

Sam, AP. Controlled release contraceptive devices: a status report. *J Contr Rel* 1992; 22: 35 – 46.

Sivin I, Nash, H, Waldman, S. Jadelle levonorgestrel rod implants: a summary of scientific data and lessons learned from programmatic experience. Population Council, New York, 2002 (48 pages).

Trussel J. Contraceptive failure in the United States. *Contraception* 2004; 70: 89-96.

DR RJAM MICHALIDES



Rob Michalides (1946) is als associate Professor in de Tumor Biologie verbonden aan het Nederlands Kanker Instituut. Hij studeerde biologie aan de Universiteit van Leiden, gevolgd door een korte periode (1971-1972) als junior onderzoeker bij de afdeling Pathologie aldaar. Zijn promotieonderzoek verrichtte hij in de VS aan de Columbia University (New York) en het National Cancer Institute (Washington) bij professor J Schlom. In 1976

promoveerde hij aan de Universiteit van Amsterdam op het proefschrift 'Molecular Biological Studies on B-type RNA tumor viruses'. Na zijn verblijf in de VS vervolgde hij zijn onderzoek aan het Antoni van Leeuwenhoekhuis in Amsterdam. Dat onderzoek besloeg verschillende terreinen: aanvankelijk geïnteresseerd in de betrokkenheid van RNA-tumorvirussen bij kanker, bestudeerde hij vervolgens veranderingen in neuralecel-adhesiemoleculen bij longkanker, en raakte hij betrokken bij het onderzoek naar veranderde regulatie van de celcyclus in kanker. Sinds een aantal jaar staat resistentie tegen anti-oestrogenen bij borstkanker centraal in zijn onderzoek. Dit onderzoek verricht hij met een groep van vijf medewerkers in het NKI. In al deze onderzoeken streeft hij naar een verbinding tussen basaal en klinisch onderzoek.

Hij is (co)-auteur van een honderdtal artikelen over deze onderwerpen. Hij was afdelingshoofd van de afdeling Tumor Biologie, voorzitter van de Nederlandse Vereniging voor Oncologie en lid van de Europese Associatie voor Kanker Onderzoek, maar richt zich de laatste tijd vooral op het onderzoek zelf.

HORMOONTHERAPIE BIJ BORSTKANKER: (k)now the target

RJAM Michalides

Elk jaar krijgen 140 van de 100.000 vrouwen in de westerse wereld borstkanker. Eén op de acht vrouwen krijgt in haar leven deze ziekte en van hen overlijdt 35%. De behandeling van borstkanker omvat chirurgie, als regel gevolgd door aanvullende radiotherapie en/of systemische behandeling. Radiotherapie wordt gegeven om de kans op een recidief te verminderen, terwijl systemische behandeling, die bestaat uit chemotherapie en/of hormonale therapie, tot doel heeft de kans op metastasen te reduceren. Bij 70% van alle borstkanker patiënten is de tumor hormoonafhankelijk. Hierbij is de groei van de kanker afhankelijk van oestradiol (E2) en van een functionele oestrogenreceptor (ER). Een langdurige of bovenmatige blootstelling aan E2 verhoogt de kans op borstkanker.

Aanmaak van E2 vindt in hoofdzaak plaats in de ovaria, en wordt gereguleerd door follikelstimulerend hormoon (FSH) en luteïniserend hormoon (LH). E2 wordt ook in andere cellen aangemaakt, zoals osteoblasten en chondrocyten in het bot, in de gladde spiercellen van de aorta, in verscheidene hersengedeelten en in mesenchymale vetcellen. Deze lokale E2-productie is van belang voor de niet-reproductieve functies van E2, zoals botdichtheid en cardiovasculaire effecten. Bij postmenopauzale vrouwen met borstkanker is de concentratie van E2 in de tumor soms 20 keer hoger dan die in bloedplasma. Dit komt door de werking van het enzym aromatase dat in de tumorcel wordt aangemaakt en dat steroïden van de bijnierschors omzet in E2. Hormonale therapie bij borstkanker is er op gericht de E2-spiegels te verlagen of de oestrogenreceptor uit te schakelen. Verlaging van E2-spiegels wordt bij premenopauzale vrouwen bewerkstelligd door medicinale ovariëctomie met de *luteïniserend hormoon-releasing hormoon*(LH-RH)-agonist goserilin.

Bij postmenopauzale vrouwen wordt de lokale aanmaak van E2 gereduceerd door aromataseremmers. Inactivering van de ER wordt bij pre- en postmenopauzale vrouwen verkregen met anti-oestrogenen, zoals tamoxifen.

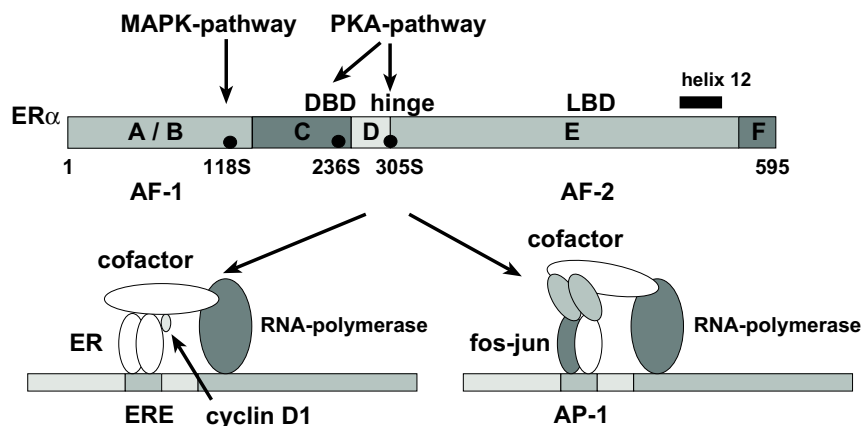
ACHTERGROND VAN DE HORMONALE THERAPIE

In 1896 al is door George Beatson beschreven dat ovariëctomie bij premenopauzale vrouwen met uitgezaaid borstkanker een dramatische reductie in tumor omvang en een verbetering van prognose te zien gaf. Dit leidde tot diverse benaderingen van hormonale therapie bij de behandeling van borstkanker.

Bij premenopauzale patiënten werden de ovaria bestraald, en adrenalectomie, hypofysectomie en/of hoge dosis diethylstilbestrol werden toegepast bij postmenopauzale patiënten (Ali en Coombes, 2002). Het succes was wisselend; slechts één derde van de patiënten reageerde op de behandeling en dan vaak nog gedurende een korte periode. In de zestiger jaren werd gevonden dat E2 een reactie in de cel opwekt door binding aan de oestrogeenreceptor (ER) en dat een E2-ER complex fungeert als een transcriptiefactor die bepaalde genen in het DNA overschrijft. Hiermee werd de oestrogeenreceptor tot een nieuw doelwit in de hormonale therapie van borstkanker (Jensen en Jordan, 2003). Momenteel is hormonale therapie bij borstkanker erop gericht de signaleringsroute van de ER te beïnvloeden. Dit kan op drie manieren: a. door een reductie van E2 met behulp van aromataseremmers, b. door de werking van de ER tegen te gaan met behulp van anti-oestrogenen, zoals tamoxifen, en c. door de ER te elimineren door anti-oestrogenen zoals fulvestrant. Bij anti-oestrogenen onderscheidt men selectieve oestrogeenreceptormodulatoren (SERM's), die in het ene weefseltype de werking van de ER remmen en in het andere weefsel juist stimuleren, en 'full' anti-oestrogenen die de werking van ER remmen en ook doen afbreken (O'Regan en Jordan, 2002; Jordan, 2004). Tamoxifen is een voorbeeld van een SERM die de werking van de ER remt in borstweefsel, maar stimuleert in bot- en endometriumweefsel. Tamoxifen is nu 20 jaar in gebruik bij de behandeling van borstkanker. Gebruik van tamoxifen heeft de sterfte met 1/3 verminderd bij vrouwen met ER-positieve borstkanker die gedurende vijf jaar met tamoxifen behandeld werden en vijftien jaar werden gevolgd (Fisher *et al*, 2004). Tamoxifen wordt nu zelfs voorgeschreven bij de preventie van borstkanker bij vrouwen met een verhoogd risico. Andere SERM's zijn raloxifen en toremifen. Een 'full' anti-oestrogeen is fulvestrant, dat recent is toegelaten bij de behandeling van patiënten met uitgezaaide borstkanker, die resistent zijn tegen tamoxifen. Verlaging van oestrogeenspiegels wordt verkregen met aromataseremmers, waartoe anastrozol, letrozol en exemestaan behoren. Vooral letrozol geeft goede resultaten te zien bij de behandeling van uitgezaaide borstkanker die resistent is tegen tamoxifen (Goss *et al*, 2003). Ook wanneer toegepast als aanvullende therapie direct na chirurgie lijken aromataseremmers veelbelovend (Baum *et al*, 2003).

Ondanks de successen zijn deze hormonale therapieën niet werkzaam bij alle patiënten met ER-positieve tumoren. Bovendien treedt in een vergevorderd stadium altijd nog resistentie op tegen hormonale therapie. Dit laatste is het gevolg van de genetische wanorde die plaats vindt in tumorcellen in een vergevorderd stadium van de tumorprogressie. Deze genetische chaos leidt dan al gauw tot hormoon-onafhankelijke groei van de tumor, waarbij hormonale therapie niet meer werkzaam is. Het is daarom van groot belang om hormonale therapie toe te passen in een vroeg stadium van de ontwikkeling van ER-positieve borstkanker en daarbij na te gaan of de tumor resistent zal gaan worden tegen een bepaalde vorm van hormonale therapie. De oorzaak van resistentie tegen anti-oestrogenen in een vroeg stadium van de tumor, die dan nog steeds afhankelijk is van hormonen voor de

groei, moet vooral worden gezocht in veranderingen in de complexe werking van de oestrogeenreceptor en in de vele interacties met andere signaleringsroutes in een cel. Voor hormonale therapie geldt dan ook: (k)now the target!



Figuur 1. Een overzicht van de structuur en werking van de oestrogeenreceptor α . De serines die door de MAPK- en PKA-signaleringsroutes worden gefosforyleerd en daarmee resistentie tegen anti-oestrogenen geven, zijn aangegeven als 118S, 236S en 305S. DBD = DNA-bindingsdomein, LBD = ligandbindingsdomein. Een geactiveerde ER kan binden aan zijn eigen ERE-bindingsplaats in het DNA, of via fos-jun aan een andere, AP-1-bindingsplaats. Voor verdere uitleg, zie tekst.

DE TARGET VAN DE HORMONALE THERAPIE: DE OESTROGEENRECEPTOR

Het menselijk genoom bevat twee genen voor de ER, $ER\alpha$ en $ER\beta$. De ligand van deze receptoren is oestrogeen, dat in het lichaam wordt omgezet in de actieve vorm, oestradiol, E2. E2 diffundeert snel door de celmembraan en bindt aan de ER in het cytoplasma van de cel. De ER verplaatst dan naar de celkern en bindt daar aan specifieke plaatsen in het DNA. In het hele DNA zijn ongeveer 600 van die ER-bindingsplaatsen aanwezig. Wanneer een E2-gebonden ER bindt aan zo'n specifieke ER-bindingsplaats, dan worden andere eiwitten als cofactoren gerecruteerd die een brug slaan tussen de ER en het naburige RNA-polymerasecomplex. Hierdoor wordt het RNA-polymerase gestimuleerd om een naastliggend gen in RNA over te schrijven (transcriptie). Cofactoren kunnen activatoren zijn, zoals steroidreceptorcofactoren (SRC's), of repressoren die transcriptie tegen gaan, zoals Ncor (figuur 1). In geval van activering door E2 bindt een coactivator aan de ER, in geval van remming van de transcriptie door tamoxifen bindt een repressor aan de ER. Tot de genen die worden overgeschreven

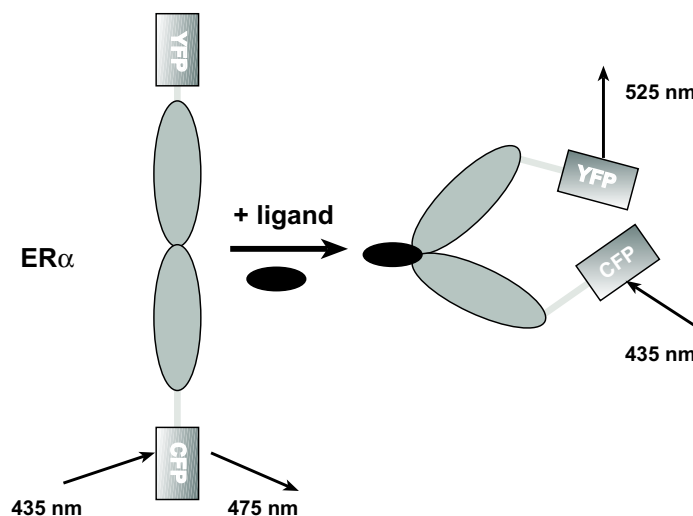
door toedoen van een E2-geactiveerde ER, behoren de genen die betrokken zijn bij de regulatie van de celcyclus en daarmee wordt proliferatie van de cel in gang gezet.

Het ER α -eiwit bevat in zijn 595 aminozuren de volgende eiwitdomeinen: van links (N terminus) naar rechts (C terminus): het AF-1-domein, dat betrokken is bij een E2-onafhankelijke activering van de ER, het C-domein, dat bindt aan de bindingsplaats in het DNA, en het AF-2-domein dat bindt aan de ligand en dat is betrokken bij de E2-afhankelijke activering van ER (zie figuur 1). ER β lijkt heel sterk op ER α , maar mist het AF-1-domein. ER beïnvloedt transcriptie van genen op een directe manier, via binding aan de eigen bindingsplaatsen in het DNA. ER beïnvloedt transcriptie ook indirect door binding aan andere transcriptiefactoren. ER kan bijvoorbeeld binden aan het fos-jun-complex dat door p38MAPkinase, een eindstap in de tyrosine-receptorsignaleringsroute wordt geactiveerd. Ook dan hangt transcriptie van in dit geval een fos-jun afhankelijk gen af van een door E2 geactiveerde ER. Opvallend is dat bij deze niet-klassieke werking van ER, E2 wel ER α activeert, maar ER β in dit geval juist remt.

Uit proeven met transgene muizen, waarbij één van de ER-genen is uitgeschakeld blijkt dat ER α betrokken is bij de ontwikkeling van borstkanker en ER β bij de maligne proliferatie van lymfoïde cellen. ER β kan in borstkankercellen echter ook cofactoren onttrekken aan ER α , en daarom heeft de verhouding van ER α ten opzichte van ER β -eiwitten in een borsttumorcél een effect op de uitwerking van een anti-oestrogeen.

WERKING VAN ANTI-OESTROGENEN EN RESISTENTIE HIERTEGEN

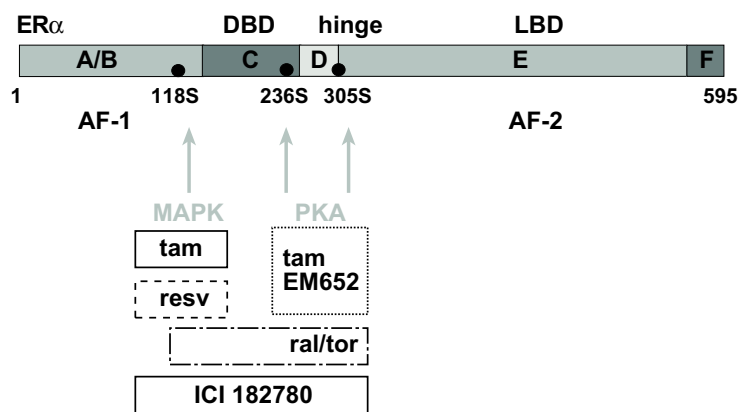
Het AF-2-domein in de ER is cruciaal voor de activering van de ER door E2 en ook voor de inactivering van ER α door anti-oestrogenen. Het AF-2-domein bestaat uit een aantal α -helices, die door de binding aan E2 of anti-oestrogeen een bepaalde oriëntatie aannemen. Als E2 bindt aan de ER, dan is helix 12 (de meest C-terminaal gelegen α -helix) zodanig georiënteerd dat cofactoren kunnen binden aan een centraal gedeelte van AF-2. Deze cofactoren kunnen dan een brug slaan naar het RNA-polymerase (figuur 1). Wanneer anti-oestrogenen binden aan ER, is de oriëntatie van deze helix 12 omgekeerd, en kunnen cofactoren niet binden. Nu binden repressoren aan de ER. Het effect van een veranderde oriëntatie van helix 12 in de ER α kan worden gevolgd in een zogeheten *fluorescence resonance energy transfer* (FRET) test (Michalides *et al*, 2004). Het principe van deze test staat afgebeeld in figuur 2.



Figuur 2. Schema van de fluorescence resonance energy transfer (FRET) test. Voor uitleg, zie tekst.

Een eiwit van de ER waarbij met behulp van DNA-technologie aan elk uiteinde een verschillend fluorescerend eiwit (CFP of YFP, varianten van het in de celbiologie veelgebruikte *green fluorescent protein* (GFP)) is geplakt, wordt in de cel ingebracht. Belichting van deze cel met licht van een golflengte dat het fluorescerend eiwit (*cyan fluorescent protein*, CFP) aan de ene kant activeert (met een golflengte van 435nm), leidt bij datzelfde eiwit tot emissie van fluorescerend licht met een hogere golflengte (475nm). De intensiteit van dit uitstralend fluorescentielicht kan worden gemeten. Het andere uiteinde van de ER bevat een ander fluorescerend eiwit (*yellow fluorescent protein*, YFP) dat bij een hogere golflengte (475nm) wordt geactiveerd, en fluorescerend licht met een weer hogere golflengte uitzendt (525nm). Enkel dan wanneer de twee uiteinden van de ER in nauw contact met elkaar komen (binnen 10nm), kan het uitstralend licht van het ene fluorescerend eiwit het fluorescerend eiwit aan het andere uiteinde activeren. Dit leidt dan tot een veranderde hoeveelheid uitstralend fluorescentielicht met de hogere golflengte (525nm), dat kan worden onderscheiden. Deze verandering in lichtemissie treedt op wanneer de ER bindt aan anti-oestrogenen. Deze zogeheten FRET-verandering duidt op een verandering in de conformatie van het eiwit, dat in geval van ER door binding van anti-oestrogenen aan de ER wordt veroorzaakt. Conformatieveranderingen door binding aan anti-oestrogenen aan de ER treden binnen 5 minuten op. Vervolgens kan worden nagegaan welke veranderingen in de ER verhinderen dat deze FRET-effecten optreden. Een voor de hand liggende oorzaak van resistentie tegen anti-oestrogenen zouden genmutaties in de ER kunnen zijn. Tot dusver is echter slechts in één tumor een

mutatie gevonden die in verband gebracht kan worden met resistentie tegen anti-oestrogenen (mutatie 531). Uit laboratoriumonderzoek is gebleken dat de ER van zelf geactiveerd raakt. Daarvoor heeft het geen E2 nodig, wanneer de ER is veranderd of wanneer de hoeveelheid aan cofactoren die bij de activering van de ER is betrokken, is veranderd. De ER raakt zelf veranderd door activering van andere signaleringsroutes. Zo raakt de ER α gefosforyleerd door toedoen van de *mitogen activated protein kinase* (MAPK)- en van de *protein kinase A* (PKA)-signaleringsroute, respectievelijk in de serines 118 en 305 (Michalides *et al*, 2004). Wanneer één van beide signaleringsroutes overactief is treedt nu ook resistentie op tegen het anti-oestrogeen tamoxifen. Zijn beide signaleringsroutes overactief, dan treedt resistentie op tegen fulvestrant. Opmerkelijk was in proeven uitgevoerd door de groep van Michalides, dat ER-positieve borsttumorcellen, waarin de PKA-activiteit experimenteel werd verhoogd, in staat bleken te groeien in aanwezigheid van het anti-oestrogeen tamoxifen, maar niet groeiden in aanwezigheid van het 'full' anti-oestrogeen fulvestrant. Dit resultaat is van klinisch belang, omdat borsttumoren die resistent zijn tegen tamoxifen, nog te behandelen zijn met een ander anti-oestrogeen, namelijk fulvestrant (Howell *et al*, 2002). Uit specifiek onderzoek naar verschillende anti-oestrogenen kwam naar voren dat resistentie tegen de afzonderlijke anti-oestrogenen samen gaat met een gevarieerd patroon van modulatie van de ER door de MAPK- en PKA-signaleringsroutes (figuur 3).



Figuur 3. De targets op ER α die, na fosforylering, resistentie induceren tegen de onderstaande anti-oestrogenen. Serine 118 wordt gefosforyleerd door een actieve MAPK, serines 236 en 305 door een actieve PKA. Wanneer MAPK actief is, wordt resistentie bewerkstelligd tegen tam(oxifen) en gedeeltelijk tegen resv(eratrol). Dit laatste is aangegeven met een onderbroken lijn. Is PKA actief, dan is de ER α resistent tegen tam(oxifen) en EM652, een ander 'full' anti-oestrogeen. Is MAPK tegelijk met PKA actief, dan is gedeeltelijke resistentie verkregen tegen ral(oxifen) en to(emifen) en complete resistentie tegen ICI 182780 (fulvestrant).

Uit de studie van Michalides bleek verder ook het klinische belang hiervan: in weefsel van primaire borsttumoren die na aanvullende behandeling resistent waren tegen tamoxifen, werd een significante verandering van de PKA-complexen gevonden waarmee een verhoogde PKA-activiteit samenging. Veranderde PKA-waarden zijn derhalve van prognostische betekenis voor de behandeling van borsttumoren met tamoxifen. Echter, en dat moge uit voorgaande duidelijk zijn, veranderde PKA-waarden zijn niet de enige manier waarop borsttumoren resistent tegen tamoxifen kunnen worden. Het is zaak alle mogelijke modificaties van de ER in kaart te brengen en daartegen geschikte antisera te ontwikkelen. Voorst is het van belang om in een retrospectieve studie in borsttumorweefsel na te gaan welke combinaties van ER-modificaties bij patiënten resistentie zullen uitwijzen tegen tamoxifen, fulvestrant, of andere anti-oestrogenen. Dit onderzoek is momenteel gaande.

Anti-oestrogenen binden met een verschillende affiniteit aan ER, en hebben vanwege hun verscheidene zijketens een verschillende uitwerking op de vouwing van het AF-2-domein. Het anti-oestrogeen fulvestrant induceert een sterkere verandering van helix 12 dan het anti-oestrogeen tamoxifen. Aanwijzingen hiervoor zijn: a. verschillen in de FRET-waarden voor de binding van verschillende anti-oestrogenen aan ER α , en b. verschillen in de modificaties van ER α die vereist zijn om resistentie tegen bepaalde anti-oestrogenen te bewerkstelligen.

Het is zaak deze modificaties in een vroeg stadium van de tumor te herkennen om daarmee te kunnen bepalen welk anti-oestrogeen juist niet gegeven moet worden. In geval van resistentie tegen anti-oestrogenen door PKA-activering wordt tumorgroei immers juist door tamoxifen bevorderd, in plaats van tegengegaan. En dat is het laatste dat de oncoloog wil bereiken!

Tot nu toe werden effecten van anti-oestrogenen afgeleid uit de remming van de groei van ER-positieve tumorcellen in *in vitro* en *in vivo* experimenten, en uit de remming van de overschrijving van ER-afhankelijke genen. De FRET-benadering zoals hierboven beschreven, bepaalt direct het eerste effect van de binding van een anti-oestrogeen aan ER en is daarmee onafhankelijk van andere factoren die groei en genoverschrijving beïnvloeden.

RESISTENTIE TEGEN ANTI-OESTROGENEN IN DE KLINIEK

Bij patiënten met ER-positieve tumoren is aanvullende behandeling met tamoxifen standaard bij pre- en postmenopauzale vrouwen. Deze aanvullende behandeling met tamoxifen heeft bij premenopauzale borstkanker eenzelfde overleving tot gevolg als behandeling met medische ovariëctomie (met LH-RH-agonist). Bij postmenopauzale vrouwen met ER-positieve borsttumoren heeft behandeling met tamoxifen gedurende 5 jaar een vermindering van recidieven van 50% gedurende de volgende 10 jaar te zien gegeven. Deze 50%-reductie in recidieven door behandeling met tamoxifen is ook te zien bij andere stadia

van tumorontwikkeling: als tamoxifen preventief wordt toegepast bij vrouwen met een verhoogd risico op borstkanker, dan vermindert de incidentie van ER-positieve borstkanker in de behandelde groep vrouwen met ongeveer 50%. Ook 50% van de gemetastaseerde borsttumoren reageert aanvankelijk op tamoxifen als eerste behandeling. Dit duidt erop dat resistentie tegen tamoxifen in principe onafhankelijk is van het stadium van de tumor en benadrukt dat een vroegtijdige onderkenning van resistentie zal bijdragen tot een verbeterde behandeling.

Zijn voor deze patiënten andere, betere hormonale therapieën beschikbaar? Een tweedelijnsbehandeling bij gemetastaseerd borstkanker leidde tot een klinisch voordeel van 25-50% wanneer tamoxifen werd toegepast bij tumoren die resistent bleken tegen aromataseremmers. En andersom, hetzelfde resultaat werd verkregen wanneer tamoxifenresistente tumoren werden behandeld met een aromatase remmer (Cuzick *et al*, 2003). Hetzelfde resultaat gaf de behandeling van tamoxifenresistente tumoren met fulvestrant te zien (Howell *et al*, 2002). Deze studies laten zien dat tumoren die resistent zijn tegen de ene hormonale therapie nog met een andere hormonale therapie behandeld kunnen worden. Dit duidt erop dat specifieke veranderingen in de ER verantwoordelijk zijn voor de resistentie tegen een bepaalde hormonale therapie. Over welke hormonale behandeling nu de meest optimale is, is het laatste woord nog niet gesproken. Bij postmenopauzale patiënten leidt een aanvullende behandeling met aromataseremmers tot betere resultaten dan met tamoxifen (Mouridsen *et al*, 2001). Deze studies bieden nieuwe mogelijkheden en aanpassingen van de hormonale behandeling van borstkanker, ofschoon nog niet alle effecten en combinaties daarvan bij patiënten zijn bestudeerd. Het meest belangrijke resultaat van deze klinische studies is dat aan patiënten met borstkanker die resistentie tegen een bepaald anti-oestrogeen vertonen, nu de mogelijkheid van een andere hormonale therapie geboden kan worden. Essentieel hierbij is dat de diagnose van resistentie tegen een bepaalde hormonale behandeling in een zo vroeg mogelijk stadium van de tumorontwikkeling gegeven kan worden. Hiermee wordt immers een fatale tumorprogressie als gevolg van een toenemende genetische chaos in de tumorcel ingeperkt. De herkenning van modificaties van de ER die leiden tot resistentie tegen anti-oestrogenen dragen in de toekomst wellicht bij tot een vorm van hormonale therapie van borsttumoren die op de individuele patiënte is toegesneden. Die target is een geweldige uitdaging.

REFERENTIES

Ali S en Coombes RC. Endocrine-Responsive Breast Cancer and Strategies for Combating Resistance. *Nature Reviews Cancer* 2002; 2: 101-112.

Baum M *et al.* Anastrozole alone or in combination with tamoxifen versus tamoxifen alone for adjuvant treatment of postmenopausal women with early-stage breast cancer. *Cancer* 2003; 9: 1802-1810.

Cuzick J et al. Overview of the main outcomes in breast-cancer prevention trials. *Lancet* 2003; 361: 296-300.

Goss PE et al. A randomized trial of letrozole in postmenopausal women after five years of tamoxifen therapy for early-stage breast cancer. *New Engl J Med* 2003; 349, 1793-1802.

Howell A et al. Fulvestrant, formerly ICI 182,780, is as effective as anastrozole in postmenopausal women with advanced breast cancer progressing after prior endocrine treatment. *J Clin Oncol* 2002;16: 3396-3403.

Jensen EV en Jordan VC. The estrogen receptor: a model for molecular medicine. *Clinical Cancer Res* 2003; 9: 1980-1989.

Jordan VC. Selective estrogen receptor modulation: Concept and consequences in cancer. *Cancer Cell* 2004; 5: 207-213.

Michalides R et al. Tamoxifen resistance by a conformational arrest of the estrogen receptor α after PKA activation in breast cancer. *Cancer Cell* 2004; 5: 597-605.

Mouridsen H et al. Superior efficacy of letrozole versus tamoxifen as first-line therapy for postmenopausal women with advanced breast cancer: results of a phase III study of the international Letrozole Breast Cancer Group. *J Clin Oncol* 2001;19: 2596-2606.

O'Regan RM en Jordan RC. The evolution of tamoxifen therapy in breast cancer: selective oestrogen-receptor modulators and downregulators. *Lancet* 2002; 3: 207-214.

DRS LGW STERKMAN



Luc Sterkman (1962) studeerde Geneeskunde aan de Vrije Universiteit in Amsterdam. Na het artsexamen met goed gevolg te hebben afgelegd, trad hij als rayonmanager in dienst van Pharmacia te Woerden. Vervolgens was hij van 1989 tot 1992 werkzaam bij Bayer, eerst als medisch adviseur verantwoordelijk voor drug safety en opleiding van de buitendienst, ondersteuning leverend aan de sales- en marketing afdeling en betrokken bij fase III-, fase IV-onderzoek en post marketing surveillance. Later was hij als

product manager bij Bayer verantwoordelijk voor de marketing van producten voor de behandeling van cardiovasculaire aandoeningen, subarachnoïdale bloedingen en diabetes mellitus.

In de periode 1992 tot 1997 was Sterkman als director business development verbonden aan U-Gene Research, een Contract Research Organisatie gevestigd in Utrecht. Voor de uitvoering van fase I-II onderzoek is een clinical pharmacology unit met meer dan 40 bedden gerealiseerd. Een half jaar na de acquisitie van U-Gene Research door Kendle werd hij managing director van de locale organisatie van circa 200 medewerkers.

Eind 1998 is Sterkman toegetreden tot het management team van IsoTis BV in Bilthoven. In eerste instantie als director business development, later verantwoordelijk voor de afdelingen product- en clinical development. In 2002 is hij met enkele collegae van IsoTis een dochteronderneming gestart, Chienna, die zich volledig concentreerde op de gecontroleerde afgifte van geneesmiddelen met behulp van biodegradeerbare polymeren. Chienna is in mei 2004 overgenomen door OctoPlus te Leiden. Sindsdien is Sterkman lid van het management team van OctoPlus en als director medical affairs primair verantwoordelijk voor het opzetten en coördineren van het klinisch onderzoek. Hij is penningmeester van BioFarmind en de Dutch Vaccines Group.

sterkman@octoplus.nl

LGW Sterkman

Kanker is een verzamelnaam voor veel uiteenlopende soorten woekeringen van weefsels of organen, waarbij iedere type tumor een eigen specifieke behandelingswijze vereist. Dit kan bestaan uit chirurgische behandeling, radiotherapie, hormonale therapie, chemotherapie en immunotherapie; vaak in een combinatie van verschillende behandelmethoden en zo nodig aangevuld met symptoom- en/of pijnbestrijding.

Op al deze terreinen is de afgelopen decennia vooruitgang geboekt en daarmee is in algemene zin de overlevingskans en -duur na het stellen van de diagnose beduidend toegenomen. Naast verbetering van de effectiviteit van de behandeling, is er ook een toenemende aandacht voor verbetering van de verdraagbaarheid van de toegepaste therapie, onder andere door het verminderen van het aantal toe te dienen injecties.

In deze bijdrage wordt nader ingegaan op de toepassing van hormonale behandeling in de oncologie en wordt met name het gebruik van nieuwe toedieningsvormen beschreven.

HORMOONGEVOELIGE TUMOREN

Tumoren kunnen op verschillende manieren worden ingedeeld: onder andere aan de hand van cel- en weefseltypen, maligniteit, stagering en metastasering. Een beperkt aantal tumoren blijkt gevoelig te zijn voor hormonen en dit biedt de mogelijkheid om de patiënt te behandelen en de groei van de tumor te remmen met stoffen die minder schadelijk zijn voor de gezonde weefsels dan de gangbare cytotoxische stoffen, die in de chemotherapie worden aangewend.

De belangrijkste voorbeelden van hormoongevoelige tumoren betreffen verschillende vormen van borstkanker en prostaatkanker. De toepassing van hormonale therapie en bijzondere toedieningsvormen bij prostaatkanker worden hierbij allereerst nader beschreven.

Prostaatcarcinoom

Jaarlijks wordt er in Nederland bij ruim 6.000 mannen prostaatkanker vastgesteld. Ruim tweederde van hen is ouder dan 70 jaar. Er is nog geen duidelijke oorzaak van prostaatkanker bekend. Het is waarschijnlijk dat een verandering in de hormonale regeling van de prostaat een rol speelt in het ontstaan van prostaatkanker. De groei van de kankercellen wordt gestimuleerd door het mannelijk hormoon testosteron. De groei van de tumor kan worden afgeremd als

de productie van het testosteron wordt verminderd of stilgezet. Deze productie vindt plaats in de testes. Derhalve staat bij de behandeling van prostaatkanker het doorbreken van die stimulans centraal. Dit kan chirurgisch plaatsvinden door middel van het operatief verwijderen van de testes (castratie), maar kan veel eleganter door gebruik te maken van medicatie.

GnRH-analoga

In de hypothalamus worden stoffen gevormd die de afgifte van hormonen uit de hypofysevoorkwab (HVK) beïnvloeden. Afhankelijk van hun werking op de HVK worden deze hypothalamus 'releasing' of 'inhibiting factors' genoemd. Gonadoreline is een synthetisch decapeptide dat identiek is aan en dezelfde werking heeft als het natuurlijk voorkomende hypothalamushormoon *luteinizing hormone-releasing hormone* (LH-RH). Het wordt ook wel *gonadotropin-releasing hormone* (GnRH) genoemd. Het stimuleert de afgifte van LH en FSH door de hypofysevoorkwab.

Daarnaast zijn synthetische analoga van het natuurlijke gonadoreline (GnRH-analoga of gonadoreline-analoga) op de markt zoals gosereline, leuproreline (ofwel leuprolide), busereline, triptoreline en nafareline (Farm Kompas, 2004). Deze stoffen zijn veel sterker werkzaam dan gonadoreline. Verhoogde LH- en FSH-spiegels resulteren aanvankelijk in een stijging van de testosteron- of oestrogeenspiegel. Bij chronisch, niet-intermitterend gebruik van GnRH-analoga raakt de hypofyse gedesensibiliseerd, dalen de LH- en FSH-spiegels en daalt de testosteronspiegel bij mannen na ongeveer drie weken tot castratieniveau. Bij vrouwen daalt de oestrogeenspiegel tot postmenopauzale waarden.

GnRH-analoga in depotpreparaten

Gezien de noodzaak om GnRH-analoga langdurig toe te dienen, is eind zeventiger, begin tachtiger jaren intensief onderzoek gedaan naar nieuwe toedieningsvormen van deze medicamenten, waaronder leuproreline en gosereline.

Onderzoekers bij de firma Abbott werkten daarbij onder de naam TAP nauw samen met het Japanse bedrijf Takeda en ontwikkelden een formulering van leuproreline op basis van polymeren. Een zorgvuldige keuze van de polymeren is van groot belang om tot het optimale systeem voor geneesmiddelafgifte te komen (Gombotz *et al*, 1995). Het polymeer kan degradeerbaar (in het lichaam afbreekbaar) of niet-degradeerbaar zijn. Een nadeel van niet-degradeerbare systemen is dat zij na afgifte van het medicament weer moeten worden verwijderd. Bij degradeerbare polymeren is het lastig, zo niet onmogelijk om het depot of implantaat te verwijderen, indien er bijvoorbeeld een acute allergische reactie optreedt.

In de praktijk zijn voor 'drug delivery' toepassingen tot op heden het meest gebruikt de polylactide (PLA) en poly(lactide-co-glycolide) (PLGA) polymeren (Langer, 1998). Deze polymeren worden al meer dan 20 jaar in biomedische

toepassingen gebruikt; zo ook in de hier beschreven formulering van leuproreline.

Het polymeer vormt een fysiek netwerk, waarin het medicament opgesloten zit. De combinatie wordt verwerkt tot zogenaamde micropartikels of microsferen (met een diameter van tientallen micrometers), die via een injectie onder de huid wordt ingespoten. Het polymeer wordt in het lichaam geleidelijk afgebroken en daarmee komt het leuproreline vrij, waarna het zijn indirecte, remmende werking op de productie van testosteronproductie kan uitoefenen. Van het product bestaan in Nederland twee vormen op de markt: een formulering van 3.75 mg en een formulering van 11.25 mg. Na eenmalige toediening van het depotpreparaat zijn na 1 maand, respectievelijk 3 maanden nog detecteerbare spiegels in het bloed aanwezig, terwijl de plasma-halfwaardetijd ongeveer 3 uur is.

Een volgende stap in de ontwikkeling van depotpreparaten van GnRH-analoga werd eveneens in de tachtiger jaren van de vorige eeuw gezet door ICI, wat nu een onderdeel vormt van Astra-Zeneca. Daar ontwikkelde men een depotpreparaat van gosereline in de vorm van een implantatiestift, die onder de huid moet worden aangebracht. Een voorgevulde injectiespuit bevat een steriel implantatiestaafje (zie figuur 1). Dit implantatiestaafje bestaat uit gosereline-acetaat in een vast biologisch afbreekbaar polymeer, samengesteld uit lactide/glycolide copolymeren. Er zijn twee verschillende formuleringen met respectievelijk 3.6 mg gosereline en 10.8 mg gosereline.



Figuur 1. Voorgevulde injectiespuiten met gosereline-implantatiestaafjes.

Toediening van gosereline 10.8 mg iedere 3 maanden, of 3.6 mg iedere 4 weken, zorgt voor voldoende onderhoud van de therapie met gosereline zonder klinisch relevante cumulatie. Piek-serumconcentraties worden binnen ongeveer 2 weken na toediening bereikt. Het farmacon komt geleidelijk vrij uit het implantaat. De t_{\max} ligt op ongeveer 2 weken en de $t_{1/2el}$ bedraagt 2-4 uur. Indien de injectie van 10.8 mg niet na 3 maanden wordt herhaald, blijft bij de meerderheid van de mannen de concentratie van testosteron tot 16 weken op castratieniveau.

De indicatiestelling voor gosereline en enkele andere GnRH-analoga heeft zich op basis van uitvoerig klinisch onderzoek in de oncologische hoek uitgebreid van gemetastaseerd testosteron-gevoelig prostaatacarcinoom tot adjuvante hormoontherapie bij bestraling van lokaal uitgebreid prostaatacarcinoom en preoperatieve behandeling van patiënten met fibromyomen van de uterus.

De volgende tabel geeft een overzicht van depotpreparaten van GnRH-analoga, die zijn ontwikkeld op basis van vergelijkbare biodegradeerbare polymeren

Tabel 1. Commerciële beschikbare depotpreparaten voor tumorbehandeling

actieve stof	productnaam	onderneming	formulering	hoofdindicatie(s)
gosereline	Zoladex®	Astra-Zeneca	implantaat	prostaatacarcinoom
leoporeline	Lupron® Depot, Lucrin®	TAR, Abbott	micropartikels	prostaatacarcinoom leiomyoma uteri
leoporeline	Eligard®, Leuprogel®	Sanofi, Medigene	injecteerbare gel	prostaatacarcinoom
triptoreline	Decapeptyl® CR	Ipsen, Ferring	micropartikels	prostaatacarcinoom leiomyoma uteri
triptoreline	Trelstar® Depot	Pfizer	micropartikels	prostaatacarcinoom leiomyoma uteri
busereline	Suprefact® Depot	Aventis	implantaat	prostaatacarcinoom
lanreotide	Somatuline® PR	Ipsen Beaufour	micropartikels	acromegalie
octreotide	Sandostatin® LAR	Novartis	micropartikels	acromegalie endocriene tumoren

Acromegalie en endocriene tumoren

Octreotide en lanreotide zijn synthetische analoga van het natuurlijke somatostatine met een krachtiger werking en een langere werkingsduur. Deze farmaca zitten in dezelfde groep van hypothalamushormonen, maar hebben een andere indicatiestelling.

Van somatostatine bestaat ook een synthetisch peptidehormoon dat identiek is aan het natuurlijke hypothalamushormoon, dat behalve in hypothalamus en hersenen ook voorkomt in de maag, dunne darm en pancreas. Het remt de secretie van onder andere groeihormoon en thyrotropine (TSH) in de hypofysevoorkwab. In het maag-darmkanaal remt het de secretie van onder andere maagzuur, pepsine, gastrine en in de pancreas van insuline en glucagon.

De somatostatineanaloga lanreotide en octreotide worden onder andere toegepast ter verlichting van symptomen die samenhangen met acromegalie, een syndroom

dat wordt veroorzaakt door overmatige secretie van groeihormoon na de puberteit. De oorzaak is meestal een goedaardige hypofysetumor. Van lanreotide is een preparaat ontwikkeld met een verlengde afgifte dat zowel intramusculair als subcutaan kan worden toegediend. Octreotide is zowel als kort- (met name van belang in de instelfase) en langwerkend preparaat beschikbaar.

De werkzaamheid van lanreotide lijkt vergelijkbaar met octreotide bij acromegalie. Direct vergelijkend onderzoek ontbreekt echter. Daarnaast worden lanreotide en octreotide toegepast bij de behandeling van klinische symptomen van carcinoïden (Zuidema *et al*, 2003). Dit zijn tumoren uitgaande van de neuro-endocriene cellen, vooral voorkomend in het maag-darmkanaal. Bij ongeveer 50% van de patiënten treedt een karakteristiek syndroom op dat wordt gekenmerkt door flushaanvallen, diarree, buikpijn en -krampen, fibrose van het endocard en astma-achtige symptomen. Lanreotide lijkt hierbij iets minder effectief dan octreotide. Octreotide is tevens geregistreerd voor toepassing bij andere endocriene tumoren van maag-darmkanaal en pancreas zoals vipomen, glucagonomen, insulinenomen en het syndroom van Zollinger-Ellison. Bij insulinenomen wordt het toegediend voor de preoperatieve beheersing van hypoglykemie en als onderhoudstherapie. Octreotide is voorts geregistreerd voor de preventie van complicaties na pancreaschirurgie.

NIEUWE TOEDIENINGSVORMEN

In vervolg op de geslaagde ontwikkeling en goede acceptatie in de markt van depotpreparaten van leuprolide en gosereline op basis van biodegradeerbare polymeren, zijn meerdere universiteiten en bedrijven zich met toegenomen aandacht en middelen gaan richten op het ontwikkelen van nieuwe systemen voor de gecontroleerde afgifte van geneesmiddelen. Daarbij gaat het doorgaans in dit verband om farmaca, die niet oraal kunnen worden gegeven, maar toch een frequente toediening vergen.

De meeste systemen in ontwikkeling voor deze ‘controlled release’ toepassingen, zijn gebaseerd op biodegradeerbare polymeren. Een selectie van ondernemingen en de technologie die zij toepassen staat in onderstaande tabel, waarna van enkele systemen enige aanvullende details worden beschreven (Jain, 2000).

Tabel 2. Selectie controlled drug delivery bedrijven en technologie.

onderneming	technologie	toepassingen
Alkermes	MediSorb®	peptiden en kleine moleculen
Alkermes	ProLease®	eiwitten
Atrix	Atrigel®	peptiden en eiwitten
Guilford	Gliadel®	hersentumoren
MacroMed	ReGel®	lokale toediening
OctoPlus	OctoDex®	eiwitten en vaccins
OctoPlus	PolyActive®	peptiden en eiwitten
SkyePharma	DepoFoam®	eiwitten, DNA en vaccins

MediSorb®/ProLease®

Alkermes heeft enkele variaties op de beschreven PLA/PLGA polymeren ontwikkeld en nieuwe methoden voor de verwerking van farmaca bedacht en in patenten beschermd. Dit vormt de basis voor de technologie van MediSorb® en ProLease®. Met behulp van deze technologie heeft Alkermes in samenwerking met Genentech een controlled release formulering van recombinant humaan groeihormoon (rh-GH) ontwikkeld. Dit product, Nutropin® Depot, bewerkstelligt een voldoende hoge spiegel van het groeihormoon gedurende een week. Kinderen met groeihormoondeficiëntie, die gedurende vele maanden tot jaren moeten worden behandeld, kan dit vele pijnlijke injecties besparen.

De afgifteprofielen zijn echter niet optimaal, omdat er bij dit systeem toch een burst-effect optreedt, waarbij meer dan 30% van de actieve stof binnen enkele uren in de circulatie komt. Dit gaat samen met de nodige bijwerkingen. Voorts is het afgiftepatroon niet lineair en blijkt ook de klinische effectiviteit van Nutropin® Depot minder dan die van de dagelijkse injecties. Deze aspecten hebben ongetwijfeld bijgedragen tot de recente aankondiging door Genentech dat het Nutropin® Depot product in de komende periode geleidelijk van de markt zal worden genomen (Genentech persbericht, 2004). Specifieke toepassingen van de Alkermes-technologie in de oncologie zijn op dit moment nog niet gerealiseerd.

ReGel®

MacroMed is een onderneming gevestigd in Salt Lake City, waar men zich concentreert op de ontwikkeling van systemen voor de gecontroleerde afgifte van farmaca op basis van zogenaamde thermosensitieve polymeren. Het afgiftesysteem heet ReGel; de gebruikte polymeren zijn opgebouwd uit het poly(ethyleen glycol) afgekort PEG en het eerder beschreven PLGA.

De polymeren vormen zoals de naam aangeeft een hydrogel. Deze gel kan via een dunne naald worden toegediend; dit is te zien in figuur 2, linker foto. De hier gebruikte polymeren zijn gevoelig voor temperatuur en vormen in de warme omgeving van het lichaam een onoplosbaar geldepot op de plaats waar de injectie is toegediend. Het gevormde depot, zoals zichtbaar in figuur 2 op de rechterfoto, blijft ongeveer 4 weken op de injectieplaats zitten en geeft het farmacon, waarmee de gel beladen is, geleidelijk lokaal af. De polymeren van het afgiftesysteem zijn volledig biocompatibel en biodegradeerbaar. De afgifte van het farmacon is een combinatie van diffusie van het farmacon en degradatie van het polymeer. Het polymeer wordt verder gemetaboliseerd en de afbraakproducten worden in enkele weken uit het lichaam geklaard.



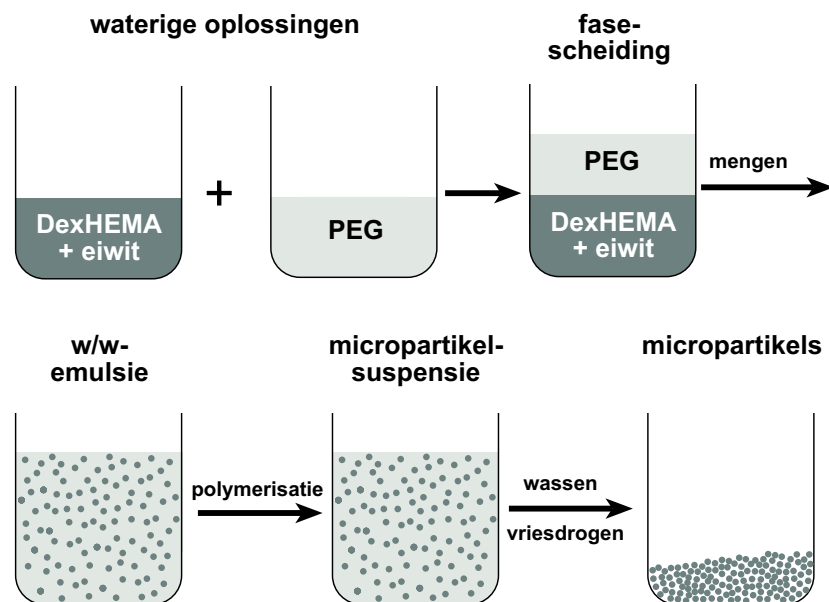
Figuur 2. Thermosensitieve hydrogel

Een van de eerste toepassingen van dit systeem in de oncologie betreft een depotformulering van paclitaxel. Dit cytostaticum wordt normaal gesproken intraveneus toegediend, hetgeen gepaard gaat met de nodige bijwerkingen. Met de hiervoor beschreven polymeren is een gelformulering van paclitaxel, OncoGel[®], ontwikkeld die in de tumor kan worden geïnjecteerd. Daarbij ontstaat een depot waaruit gedurende ongeveer 6 weken het cytostaticum lokaal wordt afgegeven. Systemische bijwerkingen kunnen hierdoor sterk worden beperkt. OncoGel[®] is inmiddels met goed gevolg in fase I getest bij patiënten met solide tumoren en er loopt fase II-onderzoek bij patiënten met slokdarmkanker. Afhankelijk van het resultaat van de lopende klinische studies, zal nader onderzoek worden gestart bij patiënten met borstkanker, longkanker en tumoren van de alvleesklier.

OctoDex[®]

Het in Leiden gevestigde bedrijf OctoPlus heeft meerdere biodegradeerbare polymeren in ontwikkeling. Als eerste volgt hier een beschrijving van OctoDex[®]. Dit polymeer is opgebouwd uit gemodificeerde dextransen. Oplossingen van dextransen worden al sinds halverwege de vorige eeuw medisch toegepast bijvoorbeeld in de vorm van ‘plasma-expanders’. Grote hoeveelheden dextransen worden dan bij de patiënt intraveneus toegediend om het circulerend volume te vergroten. Voor de toepassing van dextransen als afgiftesysteem zijn hydrogelen ontwikkeld, waarbij in de dextransen allerlei dwarsverbanden zijn aangebracht (‘cross-linking’). Op deze wijze ontstaat een fysiek netwerk, waarin het farmacon wordt ‘gevangen’.

In figuur 3 staat het proces schematisch beschreven. Er worden waterige oplossingen gemaakt van DexHEMA en poly(ethyleen glycol) ofwel PEG, die worden geroerd. Hieraan wordt het af te geven farmacon (in het schema een eiwit) aan toegevoegd. Afhankelijk van de samenstelling van de oplossingen en de snelheid van roeren ontstaan er kleine tot middelgrote micropartikels met een doorsnede van 2 tot 50 μm . Deze micropartikels worden gevriesdroogd en blijven stabiel bij koel bewaren. Voor het uiteindelijk toedienen van het geneesmiddel aan de patiënt wordt het gevriesdroogde poeder met behulp van Water voor Injectie in oplossing gebracht. Er ontstaat weer een hydrogel, die met behulp van een dunne naald (25 G) pijnloos subcutaan kan worden toegediend.

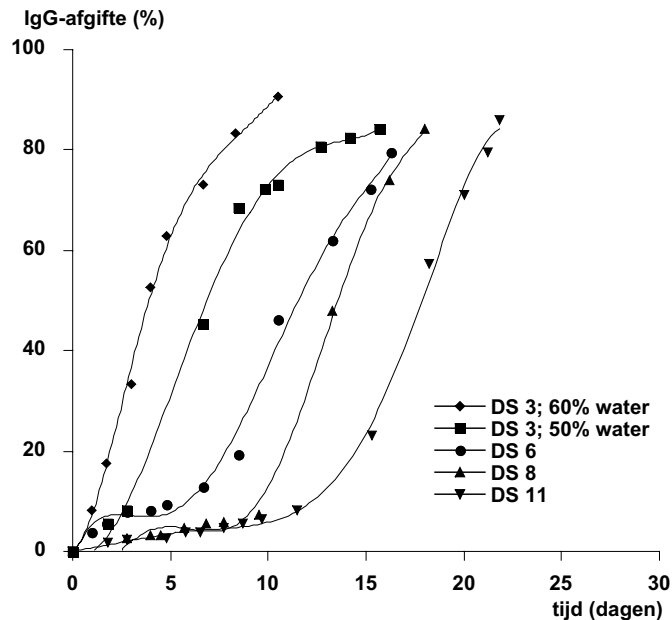


Figuur 3. Het OctoDex[®]-proces.

De snelheid en duur van de afgifte van het farmacon kunnen worden ingesteld door de keuze van de hoeveelheid water, die gebruikt wordt in het productieproces, en door de mate van *cross-linking* aan te passen. Dit laatste wordt uitgedrukt in de DS, wat staat voor *degree of substitution*; de DS is een maat voor de hoeveelheid dwarsverbanden. Bij laboratoriumonderzoek is IgG als modelstof volgens het hiervoor beschreven proces in OctoDex[®] opgenomen. Uit de grafiek in figuur 4 blijkt duidelijk dat een hogere DS, waarbij er dus meer dwarsverbanden zijn, leidt tot een vertraagde afgifte van het farmacon.

Voorts blijkt uit het verschil tussen de twee linker curves, beide formuleringen met DS 3, dat het gebruik van meer water (60% versus 50%) tijdens het maken van de micropartikels, leidt tot een snellere afgifte.

Het hier beschreven systeem op basis van gemodificeerde dextranen is in de tweede helft van 2003 na uitgebreide preklinische studies met succes voor het eerst in de mens getest als afgiftesysteem. Een formulering van humaan groeihormoon (hGH) op basis van OctoDex[®]-micropartikels is met goed gevolg toegediend aan gezonde, oudere mannelijke vrijwilligers. De micropartikels werden goed verdragen en de beladen micropartikels gaven een gecontroleerde afgifte van hGH gedurende 10-12 dagen. De biomarkers voor de biologische activiteit van hGH, te weten IGF-1 en IGF-BP3, vertoonden een simultane stijging ten teken van de biologische activiteit van het vrijgekomen groeihormoon.

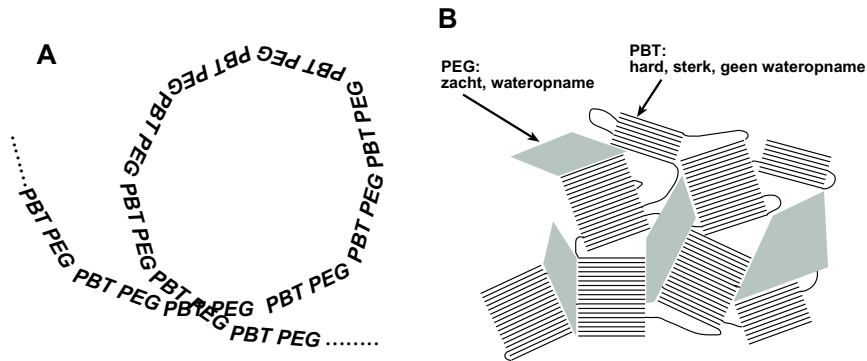


Figuur 4. Afgifte van IgG uit Dex-HEMA micropartikels met oplopende DS.

Op het gebied van de oncologie is thans onderzoek gaande naar het gebruik van dit systeem voor de gecontroleerde afgifte van interleukine-2 (IL-2). Dit farmakon wordt mede vanwege de vele bijwerkingen slechts in beperkte mate klinisch toegepast. Er is een duidelijke correlatie tussen de spiegels in het plasma en de ernst van de bijwerkingen. Met een nieuwe formulering, die een gecontroleerde afgifte van IL-2 geeft, kunnen de pieken in het plasmaprofiel worden vermeden. Daarbij kan ook de injectiefrequentie worden verminderd. Dit zou de acceptatie van dit product fors kunnen verbeteren. In de loop van 2005 zal aanvullend onderzoek in proefdieren worden uitgevoerd, waarna in de komende jaren klinische trials in patiënten met kanker kunnen worden gestart.

PolyActive®

Dit is de naam voor een andere serie polymeren die door OctoPlus worden ontwikkeld voor gecontroleerde afgifte van farmaca. Deze polymeren bestaan uit 'gesegmenteerde blok-copolymeren'. De bouwstenen zijn in dit geval blokjes poly(ethyleen glycol) (PEG) en blokjes poly(butyleentereftalaat) (PBT). Zoals in figuur 5 is te zien bestaat een molecuul van het polymeer uit een lange keten van PEG en PBT elementen (figuur 5a), die zich in het polymeer ophopen en leiden tot zachte, hydrofiële PEG-domeinen, naast hardere en hydrofobe PBT-delen, zoals aangegeven in figuur 5b.

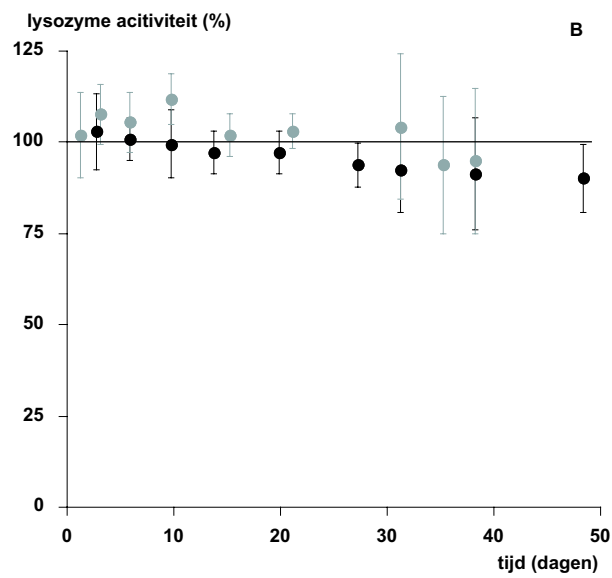
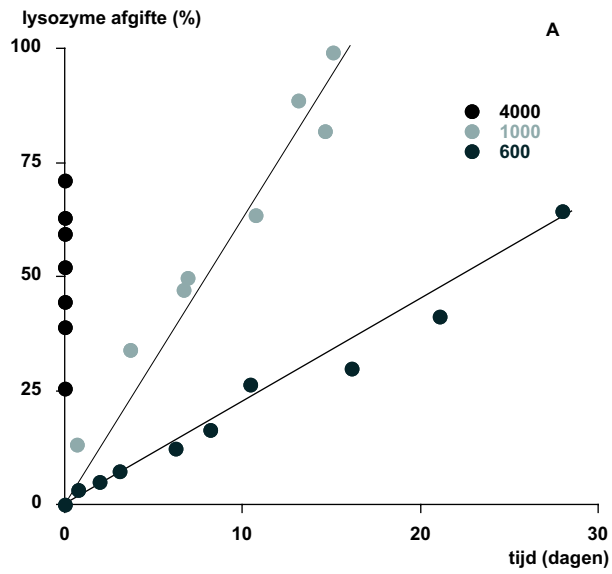


Figuur 5. De structuur van PolyActive®.

Deze polymeren zijn halverwege de vorige eeuw ontwikkeld door AKZO en aanvankelijk voor industriële verwerking getest. Later is het bij de Universiteit Leiden voor biomédische toepassingen onderzocht. Het bleek bij uitvoerige dierstudies goed biocompatibel te zijn en geschikt als biomateriaal. In de loop der jaren zijn er verschillende kleine medische hulpmiddelen ontwikkeld in de vorm van implantaten voor orthopedische toepassingen. Deze producten zijn door de FDA goedgekeurd en zowel in Europa als Amerika op de markt gebracht.

Nader onderzoek maakte duidelijk dat deze polymeren ook geschikt zijn voor de gecontroleerde afgifte van farmaca, met name voor eiwitten, peptiden en hydrofobe kleinere moleculen. Door de samenstelling van het polymeer aan te passen, zijn verschillende afgifteprofielen te realiseren met lineaire afgifte en zonder een ‘burst’-fenomeen. Een voorbeeld van de afgifte van eiwit uit PolyActive® is te zien in figuur 6a. Een model eiwit, lysozyme, is ingebouwd in dunne films met een afnemend molecuulgewicht van het PEG-element: respectievelijk 4000, 1000 en 600 dalton. Het afgifteprofiel kan hiermee worden aangepast van enkele uren tot enkele weken (figuur 6a).

Vervolgens is in het laboratorium de enzymatische activiteit van het eiwit gemeten na vrijkomen uit 2 formuleringen met dezelfde samenstelling van het polymeer. Dit is weergegeven in figuur 6b. Hieruit blijkt dat de activiteit van het eiwit vrijwel volledig behouden blijft en dat er geen problemen zijn met de stabiliteit van het eiwit na afgifte.



Figuur 6. Afgifte van lysozyme uit polymeer (a) en de activiteit van het vrijgekomen enzym (b).

Dierproeven tonen aan dat de afgifteprofielen die *in vivo* worden gerealiseerd, sterk overeenkomen met de profielen die bij *in vitro* studies zijn gemeten. Zo kon men met één enkele injectie van micropartikels, beladen met een radioactief eiwit, een constante concentratie van het eiwit in het bloed van ratten bewerkstelligen voor een periode van meer dan vier weken.

Bij de ontwikkeling van deze polymeren voor de gecontroleerde afgifte van farmaca is een studie in gezonde vrijwilligers de volgende cruciale stap. De verwachting is dat die stap in de eerste helft van 2005 zal worden gezet met micropartikels beladen met interferon alfa. Interferon alfa is als farmacon geregistreerd voor de behandeling van hepatitis C en B. Daarnaast is het ook geregistreerd voor de behandeling van enkele vormen van kanker, waaronder haarcelleukemie, Kaposi-sarcoom, progressief cutaan T-cellymfoom, chronische myeloïde leukemie, folliculair non-Hodgkin lymfoom, gevorderd niercelcarcinoom, maligne melanoom, eosinofiel granuloom en gemetastaseerd carcinoïd.

Een formulering van interferon alfa, waarbij het farmacon niet dagelijks of meerdere keren per week hoeft te worden toegediend, zou zowel voor de hepatitis-patiënten als voor patiënten die lijden aan een van de genoemde vormen van kanker groot voordeel kunnen bieden.

DepoFoam[®]

Het laatste voorbeeld van een systeem voor de gecontroleerde afgifte van farmaca, dat hier nader wordt belicht, is in ontwikkeling bij SkyePharma. Het DepoFoam[®]-afgiftesysteem bestaat uit micropartikels, die zijn opgebouwd uit hydrofiele delen waarin de actieve stof is gevangen, gescheiden door lipide membranen, die zijn samengesteld uit synthetische analogen van natuurlijk voorkomende lipiden. Dit geheel resulteert in een goed biocompatibel en biodegradeerbaar afgiftesysteem. De snelheid van afgifte van het farmacon wordt bepaald door de samenstelling van de lipiden, de gebruikte oplosmiddelen, eigenschappen van het farmacon zelf en specifieke elementen in het productieproces.

Het DepoFoam[®]-systeem kan gebruikt worden voor subcutane, intramusculaire en lokale toediening van farmaca in bijvoorbeeld de gewrichten, spinale vloeistof of de buikholte. Het blijkt in het bijzonder geschikt te zijn voor de langdurige afgifte, in een periode van dagen tot weken, van grotere peptiden, recombinant eiwitten, DNA en vaccins.

OVERZICHT TOEDIENINGSVORMEN

Naast de in het voorgaande hoofdstuk uitvoerig beschreven toedieningsvormen op basis van biodegradeerbare polymeren, zijn er uiteraard ook vele andere routes van toediening denkbaar (Jain, 2000). In de oncologie spitsen de ontwikkelingen

zich toe op afgiftesystemen die een gecontroleerde afgifte mogelijk maken over langere termijn. Op deze manier kunnen toxische effecten worden beperkt en de injectiefrequentie worden gereduceerd. Er zijn echter nog wel andere toedieningsvormen en -wegen denkbaar. In onderstaande tabel staat een overzicht van de verschillende routes van toediening van geneesmiddelen. Daarbij staat een inschatting van de gerealiseerde omzet voor producten op basis van die toedieningsvormen in het jaar 2000 en de verwachte omzet voor diezelfde groep in het jaar 2005.

Tabel 3. Drug-delivery-markten en omzetverwachtingen (x US\$ 1.000).

technologie	omzet 2000	verwachte omzet in 2005	groei % (2000-2005)
controlled release oraal	14.0	26.3	88%
pulmonaal	11.7	22.6	93%
transnasaal	8.2	16.0	95%
transdermaal	6.7	12.7	90%
depot, implantaten	3.8	7.2	89%
transmucosaal	2.4	6.5	171%
cel- & gentherapie	0.0	5.0	NA
liposomaal	1.2	3.3	175%
rectaal	0.5	1.2	140%
needle-free	0.4	1.0	150%
overig	1.5	2.5	67%
totaal	50.4	104.3	107%

Het segment van de eerder beschreven depotpreparaten en implantaten werd door Jain ingeschat op 3.8 miljard dollar in 2000 met een verwachte groei van ongeveer 90% in de periode 2000-2005 (Jain, 2000). Gezien het eerdere succes van verschillende formuleringen van leuprolide lijkt dit een reële inschatting.

Daarentegen blijkt de ontwikkeling van cel- en gentherapie aanzienlijk meer tijd en geld te vergen dan aanvankelijk was ingeschat. De marktvoorspellingen voor deze innovatieve behandelmethoden, die vooral voor de oncologie van grote waarde kunnen zijn, moeten op de korte en middellange termijn negatief worden bijgesteld.

DRUG TARGETING

Op het gebied van de farmaceutische ontwikkeling wordt niet alleen veel vooruitgang geboekt met nieuwe formuleringen en innovatieve afgiftesystemen, maar ook op het terrein van drug targeting is er veel progressie geboekt. Dit biedt de mogelijkheid om bijvoorbeeld antilichamen of cytostatica gericht af te geven

of te activeren op de plaats, waar de cellen of de weefsels zijn aangedaan. Een bespreking van de belangrijkste ontwikkelingen op dit gebied voert te ver voor de context van deze bijdrage.

Op het gebied van toepassingen van drug targeting in de oncologie wordt thans veel onderzoek gedaan. De potentiële waarde door gerichte lokale behandeling en het beperken van bijwerkingen van cytostatica is bijzonder groot en mag dan ook niet onbenoemd blijven.

REFERENTIES

Farmacotherapeutisch Kompas 2004; <http://www.cvz.nl>

Gombotz WR, Pettit DK. Biodegradable polymers for protein and peptide drug delivery. *Bioconjug Chem* 1995; 6: 332-51

Langer R. Drug delivery and targeting. *Nature*. 1998; 392 (6679 Suppl): 5-10

Zuidema J, Rooy HH van, Porsius AJ. Zonder registratie werkt het ook. Medicamenteuze behandeling van carcinoïd en het carcinoïdsyndroom. *Pharm Weekbl* 2003; 137: 774-780.

Jain KK. Drug delivery technologies and markets. *Inf Pharm* 2000

Genentech. Persbericht Nutropin Depot 1 juni 2004; <http://www.gene.com/gene/news/press-releases>.

AANTEKENINGEN

AANTEKENINGEN

AANTEKENINGEN

AANTEKENINGEN

AANTEKENINGEN