

Ein isopropanolischer Traubensilberkerzen-Extrakt erhöht bei menopausalen Frauen weder die mammografische Brustdichte noch die Brustzellen-Proliferation¹

Resultate einer sechsmonatigen, offenen Studie

Lindén Hirschberg A., Edlund M., Svane G., Azavedo E., Skoog L., von Schoultz B.

Einleitung

In den letzten Jahren ist viel über die langfristigen Folgen der kombinierten Hormontherapie (HT) mit Estrogen und Progesteron berichtet worden, im Speziellen über die Auswirkungen auf das Brustgewebe. Verschiedene Studien wiesen im Zusammenhang mit einer solchen Behandlung auf eine Erhöhung des Brustkrebs-Risikos hin (1,2). Das führte zur Suche nach Alternativen für eine wirkungsvolle Behandlung klimakterischer Symptome bei postmenopausalen Frauen mit einem minimalen Risiko für die Brust.

Verschiedene Studien zeigten die Wirksamkeit von isopropanolischem Extrakt aus dem Traubensilberkerzen-Wurzelstock (iCR: isopropanolic black cohosh rootstock) zur Linderung vasomotorischer Symptome auf (3). Zellkulturen und Tierversuche deuten darauf hin, dass iCR die Brustzellen-Proliferation nicht erhöht und sogar eher die Apoptose fördert. Bisher lagen jedoch keine Resultate über die Auswirkungen von iCR auf die Brust vor, wenn der Pflanzen-Extrakt postmenopausalen Frauen im Rahmen einer Behandlung verabreicht wurde (5–7).

Epidemiologische Studien haben gezeigt, dass die mammografische Brustdichte und Brustzellen-Proliferation als Indikator für das Risiko von Brustkrebs

betrachtet werden können (9–11). Sowohl in Tiermodellen wie bei Frauen wurde bei kurzzeitigen Hormontherapien eine Erhöhung der Zellproliferation in Brustzellen beobachtet (12,13). Bei einer signifikanten Zahl von postmenopausalen Frauen, die eine konventionelle Estrogen-Progesteron-Hormontherapie erhielten, wurde eine Erhöhung der mammografischen Brustdichte festgestellt (14–16).

Das Ziel der vorliegenden Studie war, bei einer Gruppe von postmenopausalen Frauen nach einer sechsmonatigen Behandlung mit iCR die Wirkung auf die mammografische Brustdichte und die Brustzellen-Proliferation zu untersuchen.

Studiendesign

Probandinnen:

Einschlusskriterien: postmenopausale Frauen (vgl. *Tabelle 1*), 50–70 Jahre alt, BMI 20–30, letzte Menstruation 12 Monate oder mehr vor Studienbeginn, oder FSH-Spiegel > 40 UI/L und Estradiol-Spiegel < 20 pg/ml.

Ausschlusskriterien: HT in den letzten drei Monaten, Hypertension > 170 mm Hg systolisch oder > 105 mm Hg diastolisch, Hyperlipidämie (Gesamtcholesterin > 8,0 mmol/L oder TG > 4,0 mmol/L) oder Typ-I- oder II-Diabetes.

Behandlung:

Zwei Wochen vor Behandlungsbeginn wurden eine Mammografie und eine FNA-Biopsie (Fine-Needle-Aspiration-Biopsie) durchgeführt. Die Probandinnen erhielten während der sechs Monate dauernden Studie zweimal täglich eine Tablette Remifemin® (0,018–0,026 ml Flüssigextrakt von Traubensilberkerzen-Wurzelstock (DEV 0,78–1,14:1). Die Probandinnen führ-

ten über die tägliche Einnahme und unerwünschte Arzneimittel-Wirkungen (UAW) ein Tagebuch. Nach zwei und vier Monaten wurden bei einer Visite die Frauen über die tägliche Einnahme und über aufgetretene UAW befragt. Eine letzte Visite fand am Ende der Behandlungszeit statt.

Mammografische Untersuchungen wurden am Anfang der Studie (Baseline) und nach sechs Monaten gemacht, um so die Brustdichte und Abnormitäten zu bestimmen. Diese Untersuchung beinhaltete eine mediolaterale oblique und eine kraniokaudale Aufnahme beider Brüste. Für die Bestimmung der Brustdichte wurde aber nur die mediolaterale oblique Aufnahme verwendet. Die Auswertungen erfolgten durch 2 unabhängige Radiologen, die «verblindet» waren. Etwaige Unterschiede in der Beurteilung wurden gemeinsam gelöst.

Die mammografische Brustdichte wurde nach Wolfe (17) in vier Kategorien eingeteilt: N1: sehr wenig dichtes Bindegewebe, P1: deutliche Verdichtungen in bis zu einem Viertel des Brustvolumens, P2: deutliche Verdich-

Tabelle 1:
Kennzahlen der 65 Probandinnen, deren Resultate ausgewertet wurden (1)

| | |
|----------------------------------|------|
| Alter (Jahre) | 56,8 |
| Körpergewicht | 66,7 |
| BMI | 24,2 |
| Monate seit letzter Menstruation | 82 |
| Alter bei Menarche | 13,2 |
| Anzahl Geburten | 2,7 |
| Alter bei erster Geburt | 26,8 |

(1) Bei den Zahlen handelt es sich durchwegs um Durchschnittswerte

¹ Gekürzte und auf Deutsch übersetzte Fassung des Originalartikels: Lindén Hirschberg A., Edlund M., Svane G., Azavedo E., Skoog L., von Schoultz B.: An isopropanolic extract of black cohosh does not increase mammographic breast density or breast cell proliferation in postmenopausal women, *Menopause* 2007; 14: 89–96.
Kürzung und Übersetzung: Dr. C. Bachmann

tungen in mehr als einem Viertel des Brustgewebes, DY: extrem dichtes Gewebe. Zusätzlich wurde das verdichtete Gewebe verglichen mit dem ganzen Brustvolumen in fünf Kategorien eingeteilt: 0 bis 20 Prozent; 21 bis 40 Prozent; 41 bis 60 Prozent; 61 bis 80 Prozent und 81 bis 100 Prozent.

FNA-Biopsie

Perkutane FNA-Biopsien wurden am oberen, äusseren Quadranten der linken Brust zu Beginn der Studie und am Ende der Behandlungszeit entnommen. Die Proben wurden aufgearbeitet und mit dem Ki-67/MIB-1-Antikörper in Reaktion gebracht, der mit einem in proliferierenden Zellen vorkommenden Kern-Antigen reagiert.

Serumanalysen:

Zu Beginn der Studie und nach sechs Monaten wurden venöse Blutproben entnommen und folgende Parameter bestimmt:

Sexualhormon-Bindungs-globulin (SBHG), Insulin-ähnlicher Wachstumsfaktor (IGF-1), Gesamtcholesterin und Triglyzeride.

Weiter wurde am Anfang und nach sechs Monaten je eine körperliche und eine gynäkologische Untersuchung gemacht. Die Probandinnen wurden über aufgetretene UAW am Anfang sowie nach zwei, nach vier und nach sechs Monaten befragt.

Alle Proben wurden von einem «verblindeten» Gutachter ausgewertet.

Statistische Auswertung

Der Anteil Frauen, deren Brustdichte (primäres Zielkriterium) sich vom Studienbeginn bis zum Ende der Behandlung erhöht hatte, inklusive der exakte binominale 95-Prozent-CI, für beide Zuordnungen wurde berechnet. Die Berechnung der Brustdichte, des Anteils an Ki-67-positiven Zellen, der numerischen Variablen sowie der Veränderung vom Studienbeginn bis zum Ende der Behandlung wurde mit Hilfe des Wilcoxon-signed-rank-Tests durchgeführt.

Alle Untersuchungen wurden im Karolinska Universitätshospital in Stockholm, Schweden, durchgeführt. Unabhängige Ethikkommissionen und die schwedische Gesundheitsbehörde (MPA) haben ein positives Votum beschieden.

Resultate

Insgesamt wurden 81 Frauen in das

Tabelle 2:
Ki-67-positive Zellen (1)

Die vorliegenden Zahlen sind Prozentzahlen und beziehen sich auf die FNA-Biopsien. Dargestellt sind einerseits alle auswertbaren Proben sowie die Proben der 35 Patientinnen, bei denen sowohl am Anfang der Therapie wie auch nach sechs Monaten eine auswertbare Biopsie entnommen wurde.

Alle Proben:

| | Anzahl | Mean±SD | Median | Range |
|----------------|--------|---------|--------|-------|
| Baseline | 49 | 0,8±2,0 | 0,0 | 0–11 |
| Nach 6 Monaten | 43 | 0,4±0,6 | 0,0 | 0–3 |

Proben von Patientinnen mit zwei auswertbaren Proben:

| | Anzahl | Mean±SD | Median | Range |
|----------------|--------|---------|--------|-------|
| Baseline | 35 | 0,9±2,2 | 0,0 | 0–11 |
| Nach 6 Monaten | 35 | 0,4±0,6 | 0,0 | 0–3 |

Screening aufgenommen. 6 davon nahmen wegen erfüllter Ausschlusskriterien nicht an der Studie teil. Von den 75 Probandinnen konnten die Daten von 65 ausgewertet werden. Die Resultate von 10 Probandinnen wurden wegen verschiedener Gründe nicht in die Auswertung aufgenommen.

Mammografische Brustdichte

Am Anfang der Studie wurden 29 Probandinnen (44,6%) in die Gruppe P1 und 36 (55,4%) in die Gruppe P2 eingeteilt. Nach sechs Monaten war die Verteilung genau gleich, das heisst, bei keiner der Frauen erhöhte oder erniedrigte sich die Brustdichte. Bei der prozentualen Einteilung war das Bild am Anfang der Studie das folgende: 21 Frauen (32%) waren in der Gruppe 0–20 Prozent, 26 Frauen (40,0%) in der Gruppe 21 bis 40 Prozent, 17 Frauen (26,2%) in der Gruppe 41 bis 60 Prozent, und 1 Frau (1,5%) in der Gruppe 61 bis 80 Prozent. Nach sechs Monaten gab es eine einzige Veränderung: Eine Frau wies eine verminderte Brustdichte auf und wechselte von der 41 bis 60 in die 21 bis 40 Prozent-Gruppe.

FNA-Biopsie und Ki-67-Zytologie

Von den 65 Probandinnen wurden 130 Biopsien entnommen, von denen 92 (71%); 49 Baseline, 43 Behandlungsende) ausgewertet werden konnten (vgl. *Tabelle 2*). Von 35 Probandinnen lagen Resultate vom Behandlungsbeginn und vom Behandlungsende vor. Weder in der Gesamtbewertung noch bei den einzelnen Patientinnen mit zwei Werten konnte am Schluss der iCR-Behandlung eine Veränderung gegenüber Behandlungsbeginn festgestellt werden.

Endometriumdicke und Laborwerte

Weder bei der Endometriumdicke noch bei den Laborwerten (SBGH; Gesamtcholesterin, TG) wurden irgendwelche signifikanten behandlungsbedingten Veränderungen festgestellt.

Unerwünschte Arzneimittelwirkungen

Zwölf Frauen (16%) berichteten von UAW, die mit dem Studienmedikament in Zusammenhang gebracht werden konnten. Keine davon war schwerwiegend. Sieben Frauen wiesen milde GIT-Beschwerden auf, vier Frauen hatten vaginale Blutungen/Schmierblutungen, drei Frauen klagten über milde bis moderate Kopfschmerzen, eine Frau wies eine vaginale Candidiasis auf, bei einer wurde eine kleine Brustvergrösserung festgestellt sowie bei einer eine moderate Schwellung der Hände und Füsse, die fünf Tage andauerte.

Diskussion

iCR hat sich als wirksame nichthormonale Alternative zur Behandlung klimakterischer Symptome erwiesen. Der Wirkungsmechanismus ist noch nicht richtig bekannt. Die vorliegenden Daten sprechen aber dafür, dass es sich nicht um eine systemische Estrogenwirkung handelt. Der iCR-Extrakt könnte als natürlicher Phyto-SERM (Selective Estrogen Receptor Modulator) wirken und könnte eine spezifische Wirkung auf das ZNS ausüben (20–24). Aufgrund der statistischen Power ergibt sich, dass die erhobenen klinischen Daten eine Erhöhung der Brustzellen-Proliferation von mehr als 1,5 Prozent ausschliessen, das heisst, eine Erhöhung von 1 Prozent zu Beginn auf 2,5 Prozent am Ende der Studie.

Das Studiendesign war offen und unkontrolliert, was bei der Interpretation der Resultate berücksichtigt werden sollte. Die Anordnungen der Biopsien und Mammogramme waren jedoch verblindet, wie auch die entsprechenden Auswertungen.

In früheren Studien mit denselben Methoden, in denen die Auswirkungen einer Estrogen-Progestogen-Therapie untersucht wurden, trat bei 30–50 Prozent der Probandinnen eine spürbare Erhöhung der Brustdichte auf, die diese mindestens um eine Klasse der Wolfe-Einteilung und der Prozentklassifizierung heraufsetzte (14, 15). Diese Stimulationswirkung wurde auf ähnliche Weise bei verschiedenen Estrogen-Progestogen-Kombinationen festgestellt, jedoch bei Tibolon, einem Wirkstoff mit Estrogen-, Progestogen- und mässiger Androgenwirkung, nur bei 2 bis 6 Prozent der Probandinnen (14). Daraus folgert, dass die Resultate einer Behandlung mit iCR spürbar besser sind als mit einer konventionellen Hormontherapie und mindestens so gut wie mit Tibolon.

In früheren Studien konnte gezeigt werden, dass eine Estrogen-Progestogen-Behandlung nach sechs Monaten eine 3- bis 5-fache Erhöhung der Brustzellen-Proliferation bewirkte (12, 13). Im Vergleich dazu konnte mit Tibolon keine solche Erhöhung festgestellt werden, und auch zwischen Tibolon und Plazebo konnte kein Unterschied gefunden werden (13).

Die Resultate dieser Studie stehen mit Resultaten von In-vitro-Untersuchungen über die Wirkung von Traubensilberkerze auf Estrogenrezeptorpositive Brustkrebs-Zelllinien in Übereinstimmung, bei denen eine Hemmung der Proliferation oder wenigstens keine proliferierende Wirkung festgestellt wurde (5–7, 32–34).

Zusammenfassung

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass eine sechsmonatige Behandlung mit isopropanolischem Traubensilberkerzen-Extrakt keine unerwünschten Wirkungen auf das menschliche Brustgewebe ausübt. Weiter geben die Resultate keinerlei Hinweise auf Sicherheitsprobleme mit dem Endometrium oder allgemeine Sicherheitsprobleme einer sechsmonatigen Behandlung postmenopausaler Frauen mit iCR in der vorgeschriebenen Tagesdosis. ■

Anschrift der Autoren:

Angelica Lindén Hirschberg, MD, PhD

(Korrespondenzadresse)

Måns Edlund, MD, PhD

Department of Obstetrics and Gynecology

Karolinska University Hospital

Stockholm, Sweden

E-Mail: angelica.linden-hirschberg@karolinska.se

Gunilla Svane, MD, PhD

Edward Azavedo, MD, PhD

Department of Radiology

Karolinska University Hospital

Stockholm, Sweden

Lambert Skoog, MD, PhD

Department of Pathology and Cytology

Karolinska University Hospital

Stockholm, Sweden

Bo von Schoultz, MD, PhD

Department of Obstetrics and Gynecology

Karolinska University Hospital

Stockholm, Sweden

Literaturreferenzen:

Redaktionelle Anmerkung: Da die hier aufgeführte Nummerierung der Literaturreferenzen mit der Literaturliste des Originalartikels identisch ist, werden nicht alle Referenzen in der vorliegenden Zusammenfassung erwähnt.

1. Chlebowski R.T., Hendrix S.L., Langer R.D. et al.: Influence of estrogen plus progestin on breast cancer and mammography in healthy postmenopausal women: the Women's Health Initiative randomized trial, *JAMA* 2003; 289: 3242–3253.
2. Beral V.: Breast cancer and hormone-replacement therapy in the Million Women Study, *Lancet* 2003; 362: 419–427.
3. Osmers R., Friede M., Liske E., Schnitker J., Freudenstein J., Henneicke-von Zepelin H.H.: Efficacy and safety of isopropanolic black cohosh extract for climacteric symptoms, *Obstet Gynecol* 2005; 105: 1074–1083.
4. Liske E., Hänggi W., Henneicke-von Zepelin H.H., Boblitz N., Wuestenberg P., Rahlfs V.W.: Physiological investigation of a unique extract of black cohosh (*Cimicifuga racemosa* rhizoma): a 6-month clinical study demonstrates no systemic estrogenic effect, *J Women's Health (Larchmt)* 2002; 11: 163–174.
5. Einbond L.S., Shimizu M., Xiao D. et al.: Growth inhibitory activity of extract and purified components of black cohosh on human breast cancer cells, *Breast Cancer Res Treat* 2004; 83: 221–231.
6. Hostanska K., Nisslein T., Freudenstein J., Reichling J., Saller R.: *Cimicifuga racemosa* extract inhibits proliferation of estrogen receptor-positive and negative human breast carcinoma cell lines by induction of apoptosis, *Breast Cancer Res Treat* 2004; 84: 151–160.
7. Hostanska K., Nisslein T., Freudenstein J., Reichling J., Saller R.: Evaluation of cell death caused by triterpene glycosides and phenolic substances from *Cimicifuga racemosa* extract in human MCF-7 breast cancer cells, *Biol Pharm Bull* 2004; 27: 1970–1975.
8. Freudenstein J., Dasenbrock C., Nisslein T.: Lack of promotion of estrogen-dependent mammary gland tumors in vivo by an isopropanolic *Cimicifuga racemosa* extract, *Cancer Res* 2002; 62: 3448–3452.
9. Greendale G.A., Reboussin B.A., Sie A. et al.: Effects of estrogen and estrogen-progestin on mammographic parenchymal density, *Ann Intern Med* 1999; 130: 262–269.
10. Boyd N.F., Lockwood G.A., Byng J.W., Tritchler D.L., Yaffe M.J.: Mammographic densities and breast cancer risk, *Cancer Epidemiol Biomark Prev* 1998; 7: 1133–1144.
11. Hofseth L.J., Raafat A.M., Osuch J.R., Pathak D., Slomski C.A., Haslam S.Z.: Hormone replacement therapy with estrogen or estrogen plus medroxyprogesterone acetate is associated with increased epithelial proliferation in the normal postmenopausal breast, *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 4559–4565.
12. Conner P., Söderqvist G., Skoog L. et al.: Breast cell proliferation in postmenopausal women during HRT evaluated through fine needle aspiration cytology, *Breast Cancer Res Treat* 2003; 78: 159–165.
13. Conner P., Christow A., Kersemaekers W. et al.: A comparative study of breast cell proliferation during hormone replacement therapy: effects of tibolone and continuous combined estrogen-progestogen treatment, *Climacteric* 2004; 7: 50–58.
14. Lundström E., Christow A., Kersemaekers W. et al.: Effects of tibolone and continuous combined hormone replacement therapy on mammographic breast density, *Am J Obstet Gynecol* 2002; 186: 717–722.
15. Conner P., Svane G., Azavedo E. et al.: Mammographic breast density, hormones, and growth factors during continuous combined hormone therapy, *Fertil Steril* 2004; 81: 1617–1623.
16. Junkermann H., von Holst T., Lang E., Rakov V.: Influence of different HRT regimens on mammographic density, *Maturitas* 2005; 50: 105–110.
17. Wolfe J.N.: Breast patterns as an index of risk for developing breast cancer, *AJR Am J Roentgenol* 1976; 126: 1130–1137.
18. Franzén S., Zajicek J.: Aspiration biopsy in diagnosis of palpable lesions of the breast: critical review of 3479 consecutive biopsies, *Acta Radiol Ther Phys Biol* 1968; 7: 2411–2462.
19. Gerdes J., Li L., Schlueter C. et al.: Immunobiochemical and molecular biologic characterization of the cell proliferation-associated nuclear antigen that is defined by monoclonal antibody Ki-67, *Am J Pathol* 1991; 138: 867–873.
20. Jarry H., Metten M., Spengler B., Christoffel V., Wuttke W.: In vitro effects of the *Cimicifuga racemosa* extract BNO 1055, *Maturitas* 2003; 44: S31–S38.
21. Seidlova-Wuttke D., Hesse O., Jarry H. et al.: Evidence for selective estrogen receptor modulator activity in a black cohosh (*Cimicifuga racemosa*) extract: comparison with estradiol-17A, *Eur J Endocrinol* 2003; 149: 351–362.
22. Winterhoff H., Spengler B., Christoffel V., Buterweck V., Löhning A.: *Cimicifuga* extract BNO 1055: reduction of hot flushes and hints on antidepressant activity, *Maturitas* 2003; 44: 51–58.
23. Woo K.C., Park Y.S., Jun D.J. et al.: Phytoestrogen *cimicifugoside*-mediated inhibition of bovine adrenal catecholamine secretion by blocking nicotinic acetylcholine receptor in chromaffin cells, *J Pharmacol Exp Ther* 2004; 309: 641–649.
24. Burdette JE, Liu J, Chen SN et al.: Black cohosh acts as a mixed competitive ligand and partial agonist of the serotonin receptor, *J Agric Food Chem* 2003; 51: 5661–5670.

25. Lundström E., Wilczek B., von Palffy Z., Söderqvist G., von Schoultz B.: Mammographic breast density during hormone replacement therapy: differences according to treatment, *Am J Obstet Gynecol* 1999; 181: 348–352.
26. Harvey J., Scheurer C., Kawakami F.T., Quebe-Fehling E., de Palacios P.I., Ragavan VV.: Hormone replacement therapy and breast density changes, *Climacteric* 2005; 8: 185–192.
27. McTiernan A., Martin C.F., Peck J.D. et al.: Estrogen-plus-progestin use and mammographic density in postmenopausal women: Women's Health Initiative randomized trial, *J Natl Cancer Inst* 2005; 97: 1366–1376.
28. Skoog L., Humla S., Isaksson S., Tani E.: Immunocytochemical analysis of receptors for estrogen and progesterone in fine needle aspirates from human mammary carcinomas, *Diagn Cytopathol* 1990; 6: 95–98.
29. Skoog L., Rutqvist L.E., Wilking N.: Analysis of hormone receptors and proliferation fraction in fine-needle aspirates from primary breast carcinomas during chemotherapy or tamoxifen treatment, *Acta Oncol* 1992; 31: 139–141.
30. Donegan W.: Diagnosis. In: Donegan WL, Spratts JS, eds. *Cancer of the Breast*. Philadelphia, Pa: WB Saunders, 1995: 157–285.
31. Cline JM, Söderqvist G., von Schoultz B., Skoog L.: Regional distribution of proliferating cells and hormone receptors in the mammary gland of surgically postmenopausal macaques, *Gynecol Obstet Invest* 1997; 44: 41–46.
32. Bodinet C., Freudenstein J.: Influence of *Cimicifuga racemosa* on the proliferation of estrogen-receptor positive human breast cancer cells, *Breast Cancer Res Treat* 2002; 76: 1–10.
33. Bodinet C., Freudenstein J.: Influence of marketed herbal menopause preparations on MCF-7 cell proliferation, *Menopause* 2004; 11: 281–289.
34. Zierau O., Bodinet C., Kolba S., Wulf M., Vollmer G.: Antiestrogenic activities of *Cimicifuga racemosa* extract, *J Steroid Biochem Mol Biol* 2002; 80: 125–130.
35. Morris K., Look R.M., Hudson V. et al.: The efficacy and safety of black cohosh for managing menopausal symptoms in breast cancer survivors, *Breast Cancer Res Treat* 2003; 82 (Suppl 1): 159.
36. Munoz G.H., Pluchino S.: *Cimicifuga racemosa* for the treatment of hot flushes in women surviving breast cancer, *Maturitas* 2003; 44: 59–65.
37. Jacobson J.S., Troxel A.B., Evans J. et al.: Randomized trial of black cohosh for the treatment of hot flushes among women with a history of cancer. *J Clin Oncol* 2001; 19: 2739–2745.