

# **l'Estetrol (E4), estrogène naturel humain: propriétés spécifiques et innovantes**

**Professeur Ulysse Gaspard, MD, PhD & Professeur Jean-Michel Foidart, MD, PhD**  
Dépt. Gynécologie & Obstétrique, Université de Liège;  
Mithra Pharmaceuticals, Liège

Antibes Juan-les-Pins, France – 22-23 juin 2022  
Congrès International de Gynécologie Obstétrique et Reproduction de la Côte d'Azur

# Conflits d'intérêts

- U. G. Consultant Senior Estetra/Mithra Pharmaceuticals, Belgique
- J-M. F. Co-fondateur de Mithra Pharma et membre du Conseil d'Administration

# Les estrogènes utilisés actuellement sont des molécules anciennes



1929

Butenandt and Doisy discovered the first estrogen (Estrone [E1])



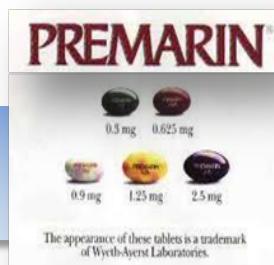
1930

Estriol (E3)



1936

Estradiol (E2)



1941

Conjugated Estrogens



1943

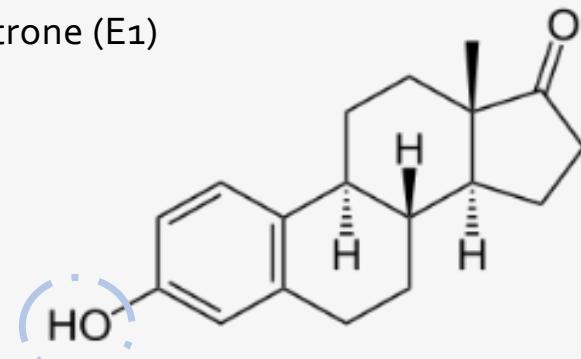
Ethinylestradiol (EE)



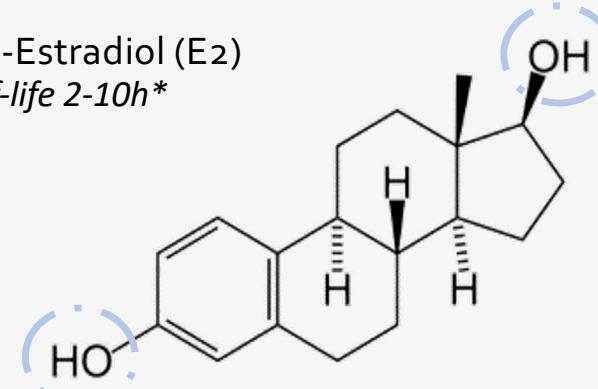
## No significant improvement for almost 80 years

# Estrogènes naturels humains

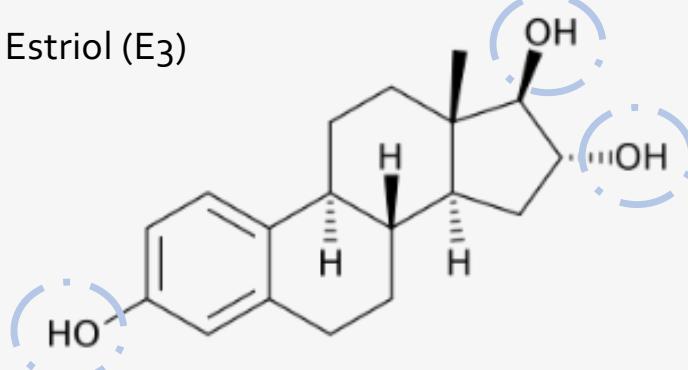
Estrone (E<sub>1</sub>)



$17\beta$ -Estradiol (E<sub>2</sub>)  
Half-life 2-10h\*

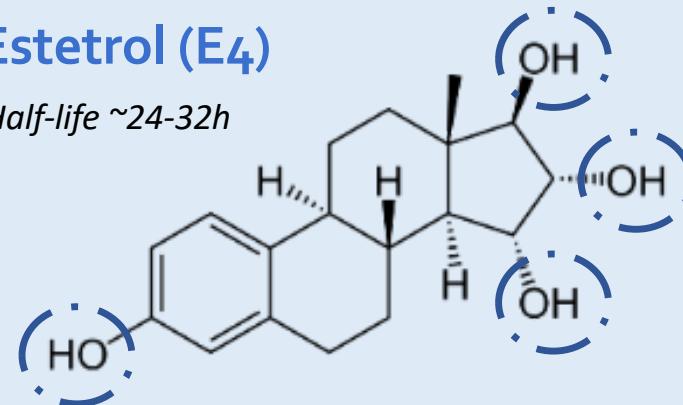


Estriol (E<sub>3</sub>)



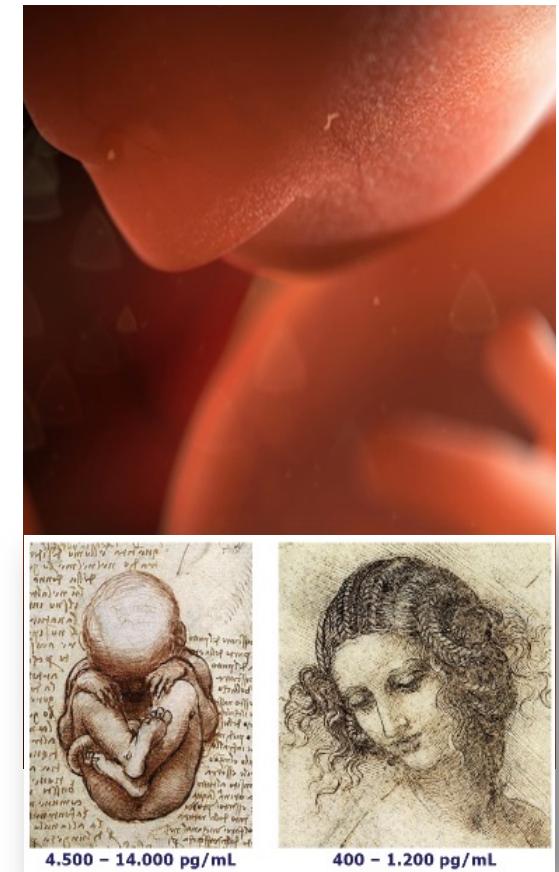
**Estetrol (E<sub>4</sub>)**

Half-life ~24-32h



# Estetrol

- Produit par le foie foetal humain<sup>1,2</sup>
- DéTECTé dès la 9ème semaine de grossesse dans l'urine maternelle<sup>3</sup>
- Taux plasmatiques foetaux 12 fois supérieurs aux taux maternels<sup>4</sup>
- Longue demi-vie (~24-32 heures)<sup>5,6</sup>
- Conçu par la nature, synthétisé à partir d'une source végétale (soja)<sup>7</sup>
- **Estrogène Natif ayant une activité tissulaire selective (NEST, Native Estrogen with Selective Tissue action)**<sup>7-8</sup>



<sup>1</sup>Cantineau R et al. J Steroid Biochem 1985; <sup>2</sup>Hagen AA et al. Acta Endocrinol 1965; <sup>3</sup>Heikkilä J. et al. J. Steroid Biochem 1971;

<sup>4</sup>Holinka CF et al. J. Steroid Biochem Mol Biol 2008; <sup>5</sup>Visser M et al. Climacteric 2008; <sup>6</sup>Drovelis (E4 15 mg as monohydrate/DRSP 3 mg), SmPC, 2021;

<sup>7</sup>Gérard et al. ERCP 2022; <sup>8</sup>Foidart JM et al. 2019 In: Brinton RD et al. (eds.) 2019. Sex Steroids' Effects on Brain, Heart and Vessels. ISGE Series; <sup>9</sup>Arnal JF et al. Physiol Rev 2017

# E4 est un Native Estrogen with Selective Tissue action reposant sur un mécanisme d'action unique

E4 agit différemment selon le type de tissu:

Native  
Estrogen with  
Selective  
Tissue-activity

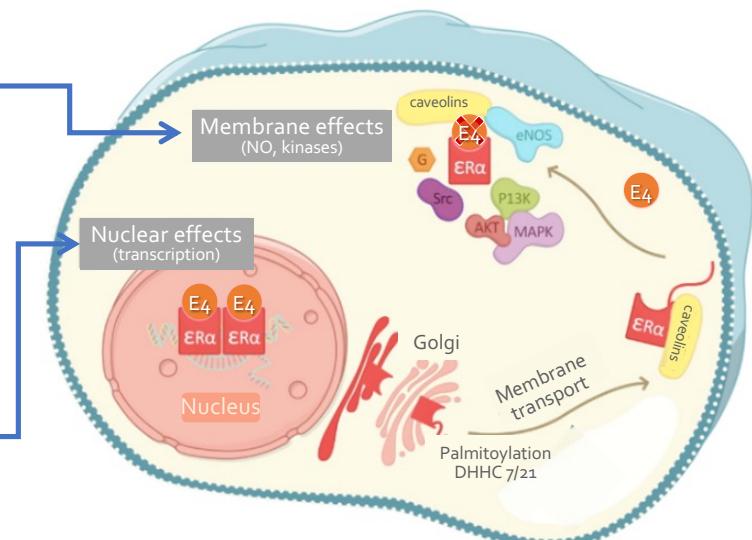
## Antagoniste sur l'ER $\alpha$ membranaire<sup>1-3</sup>

- ✓ E4 bloque le membrane estrogen receptor<sup>1-3</sup>
- ✓ E4: effet neutre sur le foie contrairement aux autres estrogènes<sup>1-7</sup>
- ✓ E4: faible impact sur le sein normal ou cancéreux<sup>8-11</sup>

## Agoniste sur le nuclear ER $\alpha$ <sup>1-3</sup>

- ✓ E4 active le nuclear estrogen receptor<sup>1-3</sup>
- ✓ E4 : importante activité estrogénique sur le vagin, l'endomètre, l'os, et le système cardio-vasculaire, entraînant des effets bénéfiques<sup>1-3</sup>

The membrane ER $\alpha$  forms a signaling platform at the surface of the cell. Its activation stimulates cell proliferation and/or migration

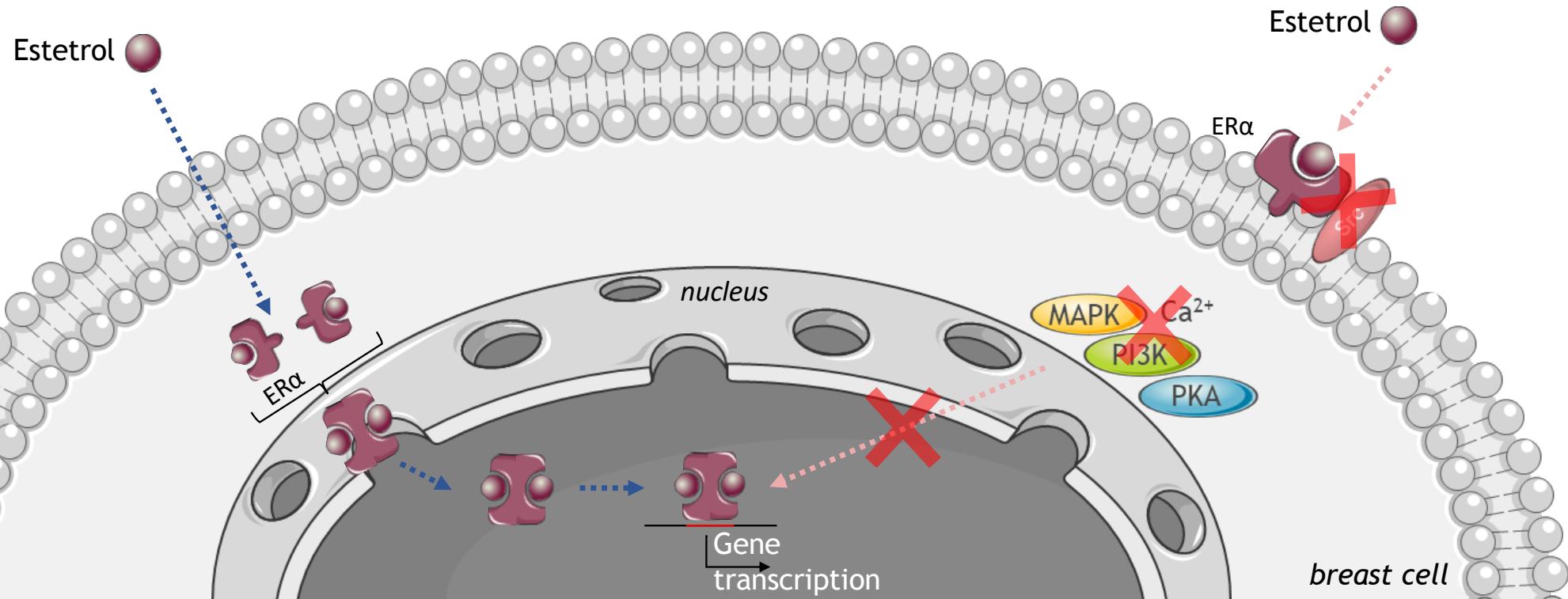


E4, Estetrol; ER, estrogen receptor, NO, nitric oxide

<sup>1</sup>Abot et al. EMBO Mol Med 2014; <sup>2</sup>Foidart et al. In: Brinton RD et al. (eds.) 2019. Sex Steroids' Effects on Brain, Heart and Vessels. ISGE Series; <sup>3</sup>Arnal et al. Physiol Rev 2017; <sup>4</sup>Mawet et al. EJCRHC 2015; <sup>5</sup>Kluft et al. Contraception 2017; <sup>6</sup>Douxfils et al. Contraception 2020; <sup>7</sup>Klipping et al. Contraception 2021; <sup>8</sup>Giretti et al. Front Endocrinol 2014; <sup>9</sup>Gérard et al. J Endocrinol 2015; <sup>10</sup>Singer et al. Carcinogenesis 2014; <sup>11</sup>Visser et al. Horm Mol Biol Clin Invest 2012

# E4 présente un Mode d'Action UNIQUE

- Nuclear-initiated steroid signaling (NISS):
- Blockade of membrane-initiated steroid signaling (MISS):

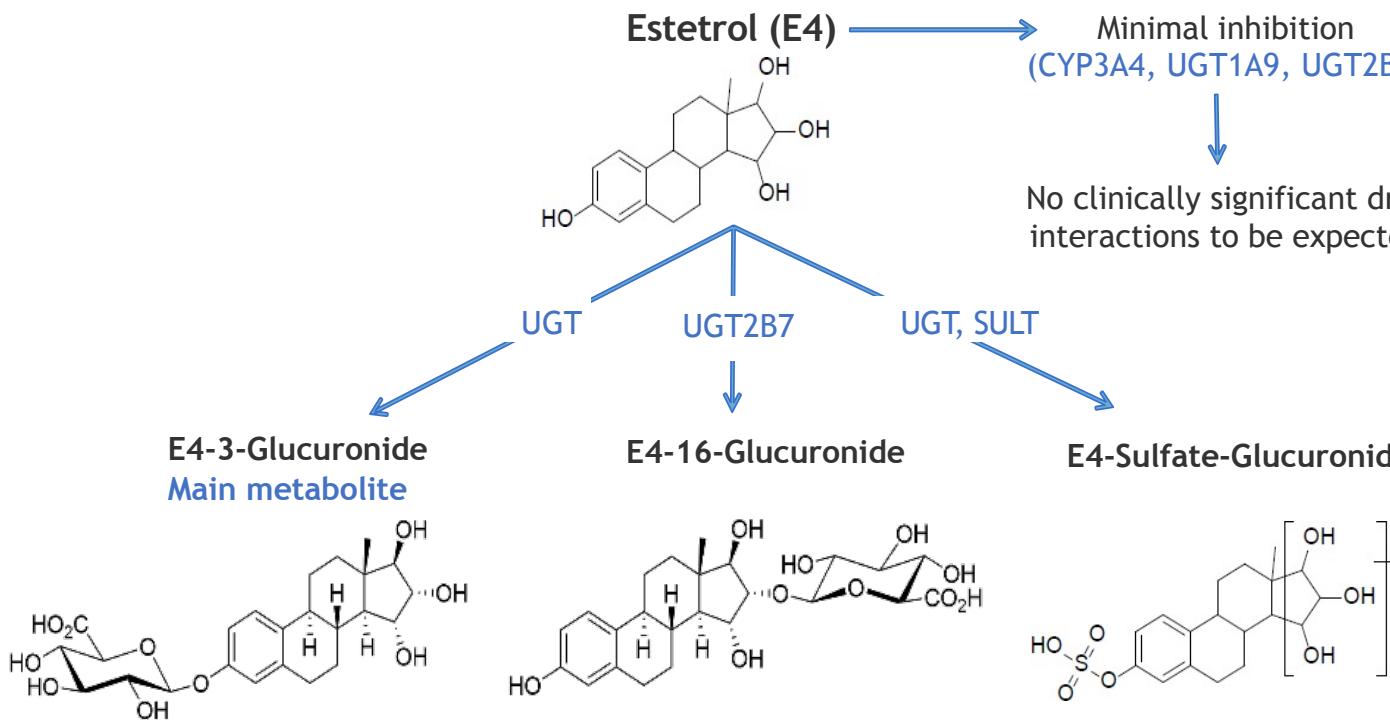


# E4: un Profil PK UNIQUE parmi les estrogènes

	<b>E4 (in E4/DRSP)<sup>1</sup></b>	<b>EE (in EE/DRSP)<sup>2</sup></b>	<b>E2 (in E2/NOMAC)<sup>3</sup></b>
<b>Biodisponibilité orale</b>	~70%	45%	1%
<b>Liaison aux protéines plasmatiques</b>	<p><b>Liaison faible et non spécifique</b>            → ~50% de forme libre active            → Liaison négligeable à la SHBG            → N'induit pas la synthèse de SHBG</p>	<p><b>Fort niveau de liaison</b>            → 2% de forme libre active            → Induit la synthèse de SHBG</p>	<p><b>Fort niveau de liaison</b>            → 1-2% forme libre active</p>
<b>Métabolisme</b>	<p><b>Métabolisme de phase 2</b>            → Métabolites inactifs (glucurono-conjugués)</p> <p><b>Pas de métabolisation par les enzymes CYP450</b></p> <p><b>Pas d'impact sur l'activité des enzymes CYP450</b></p>	<p><b>Métabolites hydroxylés et méthylés présents sous forme libre ou conjuguée</b></p> <p><b>EE est un inhibiteur des enzymes CYP450 (CYP3A4)</b></p>	<p><b>Métabolites actifs</b>            → Conversion en oestrogène moins puissants (E1)            → Implique les CYP450            → Dérivés hydroxylés (catéchols) potentiellement réactifs</p>
<b>Demi-vie</b>	$t_{1/2} \sim 24 \text{ h}$	$t_{1/2} \sim 20 \text{ h}$	$t_{1/2} \sim 3.6 \pm 1.5 \text{ h}$

<sup>1</sup>Drovelis, estetrol 15 mg (as monohydrate)/drospirenone 3 mg SmPC, 2021; <sup>2</sup>Yasmin ethinylestradiol/drospirenone 0.03 mg/3 mg). SmPC, December 2018 | <sup>3</sup>Zoely (norgestrel acetate/estradiol 2.5 mg/1.5 mg). SmPC, January 2019

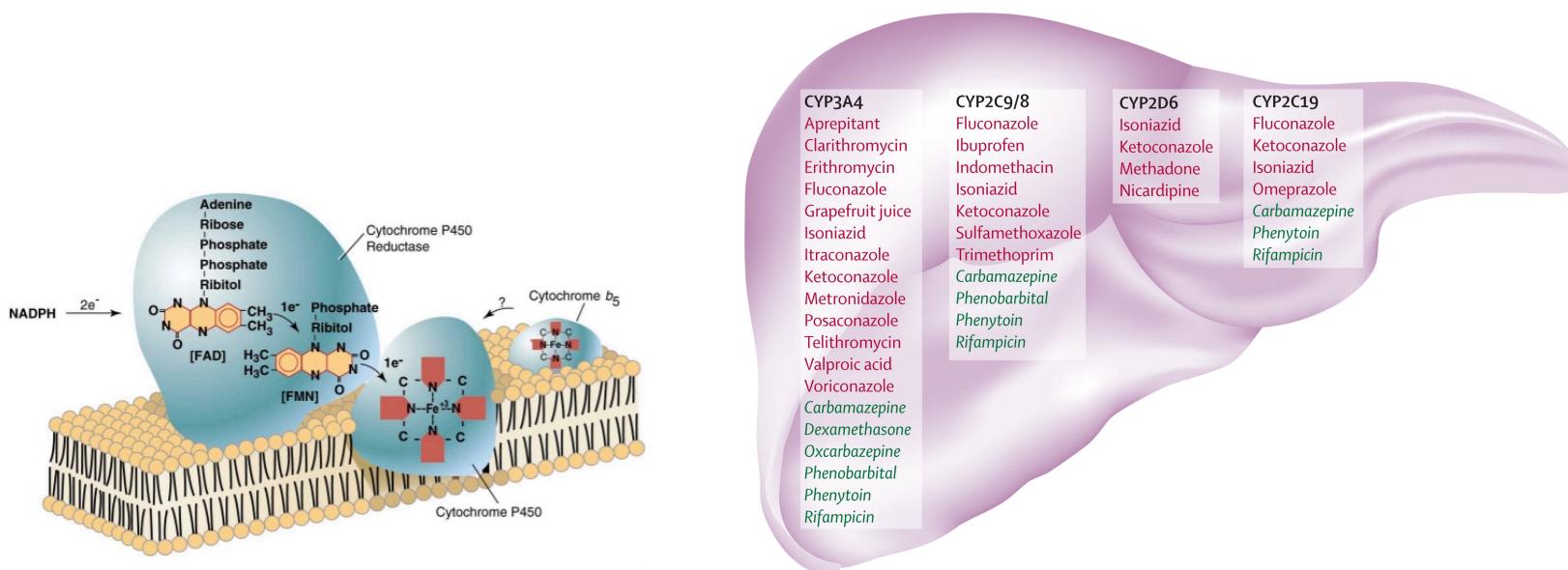
# E4 est un produit final du métabolisme des estrogènes ; il n'est pas reconvertis en métabolites ACTIFS



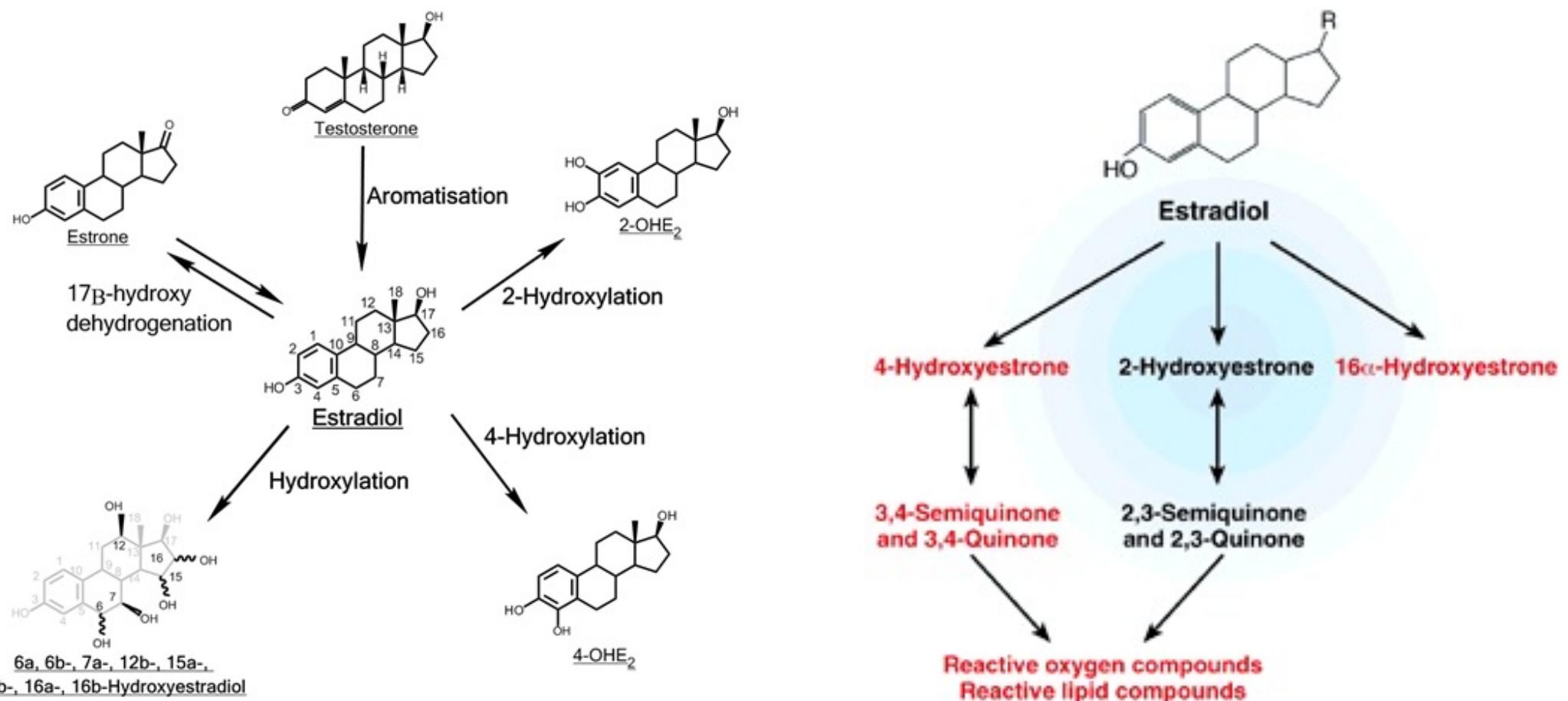
- E4 is a **terminal end-product** of estrogen metabolism, which is **not converted** back, *in vivo*, into active metabolites like estriol (E3), estradiol (E2) or estrone (E1)
- Unlike for other estrogens, **CYP enzymes do not play a major role** in the metabolic pathway of E4

# E4 présente un profil métabolique UNIQUE

- E4 has a low risk for drug-drug interactions
- CYP enzymes do not play a major role in the metabolic pathway of E4



# Des métabolites hydroxylés (potentiellement carcinogènes) de l'Estradiol sont produits via les enzymes du Cytochrome P450



# E4 possède un métabolisme unique et bénéfique

- **E4 n'a pas de métabolite actif<sup>1,2</sup>**

Il est métabolisé dans le foie comme un produit terminal sulfaté /ou glucurono-conjugué, et n'a pas de metabolite actif

- **E4 présente un faible risque d'interaction médicamenteuse<sup>3</sup>**

E4 n'est pas métabolisé par les enzymes du Cytochrome P450 au contraire des autres estrogènes

- **Aucun métabolite hydroxylé (potentiellement carcinogène) de l'E4 n'a été identifié<sup>1</sup>**

## E4: impact neutre sur l'environnement (poissons, algues, crustacés, sédiments, zooplancton, eau, etc.)

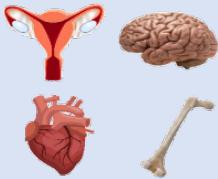
- ✓ Seulement 2,5% E4 ingéré se retrouve dans l'urine comme E4 biologiquement actif : (0.00001mg/L- eaux de surface= **PEC\***)
- ✓ Des doses jusque 32 $\mu$ g E4/L sans effet sur **Medaka fish**. Tandis que E1, E2, EE, 1ng/L (eaux des lacs, etc) : infertilité, ambiguïté sexuelle, ovotestis chez poissons mâles et leur descendance (ex: 85% Perches[Bass] NE-USA : œufs croissant dans leurs testicules)
- ✓ Des doses jusque 100mg E4/L n'affectent pas les **algues**.
- ✓ Des doses jusqu'à 11,5mg E4/L n'affectent pas les **crustacés**, comme les autres estrogènes , e.a. EE!
- ✓ **Donc, E4 ne s'accumule pas dans les organismes vivants, les eaux de surface (rivières, lacs, mers et sédiments)**



\*PEC: Predictive Environmental Concentration

Kestemont P abstr SFP 2020; UN 2015; Le Merrill, Nature, 2020

# Mode d'Action: E4 est un estrogène tissu-sélectif

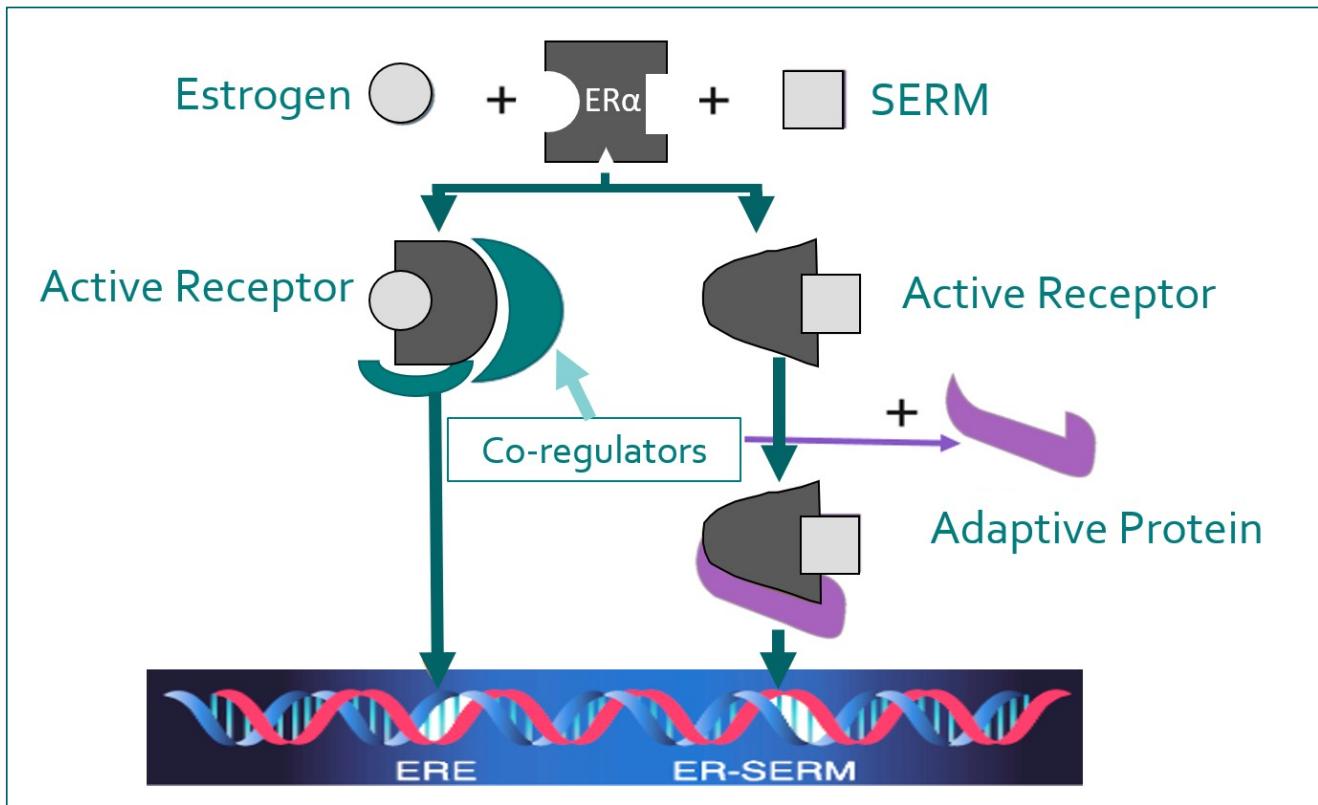
Activité oestrogénique	Activité neutre	Activité mixte
		
<ul style="list-style-type: none"> <li>Maintien des tissus utérovaginaux</li> <li>Inhibition de l'ovulation</li> <li>Effets cardioprotecteurs</li> <li>Prévention de la déminéralisation osseuse</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Impact faible sur la synthèse des facteurs de coagulation hépatiques</li> <li>Pas d'induction de la synthèse de SHBG</li> <li>Impact neutre sur le profil lipidique</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Activité oestrogénique faible</li> <li>Activité anti-oestrogénique sur l'E2</li> </ul>

E2 = estradiol; SHGB = sex hormone binding globulin

Visser et al. Climacteric 2008; Mawet et al. Eur J Contracept Reprod Health Care 2015; Gérard et al. J Endocrinol 2015; Abot et al. EMBO Mol Med 2014; Coelingh Bennink et al. Climacteric 2008; Heegaard et al. Climacteric 2008; Holinka et al. Biol Reprod. 1980; Holinka et al. Climacteric 2008; Pluchino et al. J Steroid Biochem Mol Biol 2014; Tsikitishvili et al. Exp Neurol 2014; Guiarc'h et al. J Am Heart Assoc 2018; Kluft et al. Contraception 2017; Douxfils et al. Contraception 2020; Klipping et al. Contraception 2021; Gérard et al. 2022, ERCP

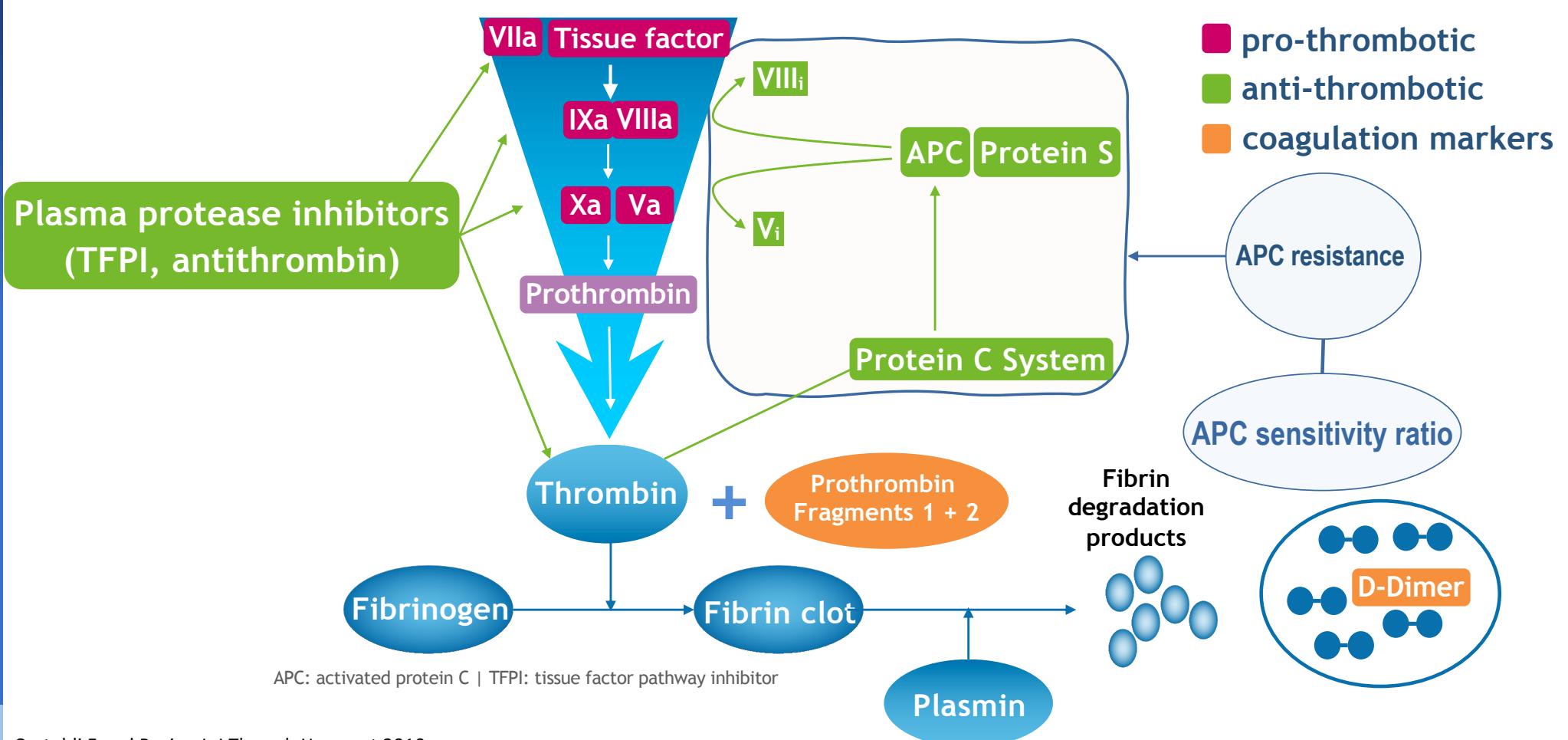
# Pourquoi E4 est distinct d'un SERM

Selective Estrogen Receptor Modulators (SERMs) interact with the ligand binding domain of ER $\alpha$  in a manner that is distinct from that of estrogens, including E4

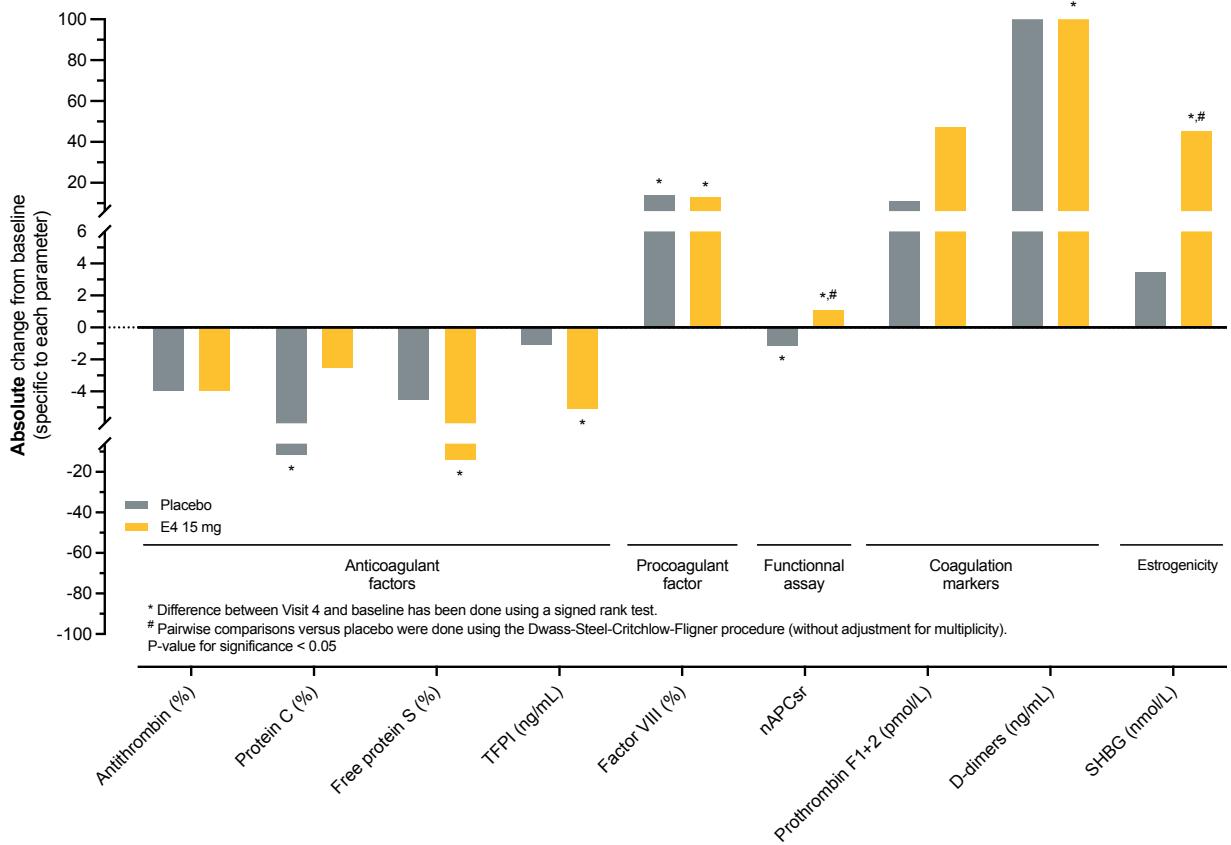


# Impact limité de E4 sur le foie I HEMOSTASE

## Hemostasis - coagulation cascade overview

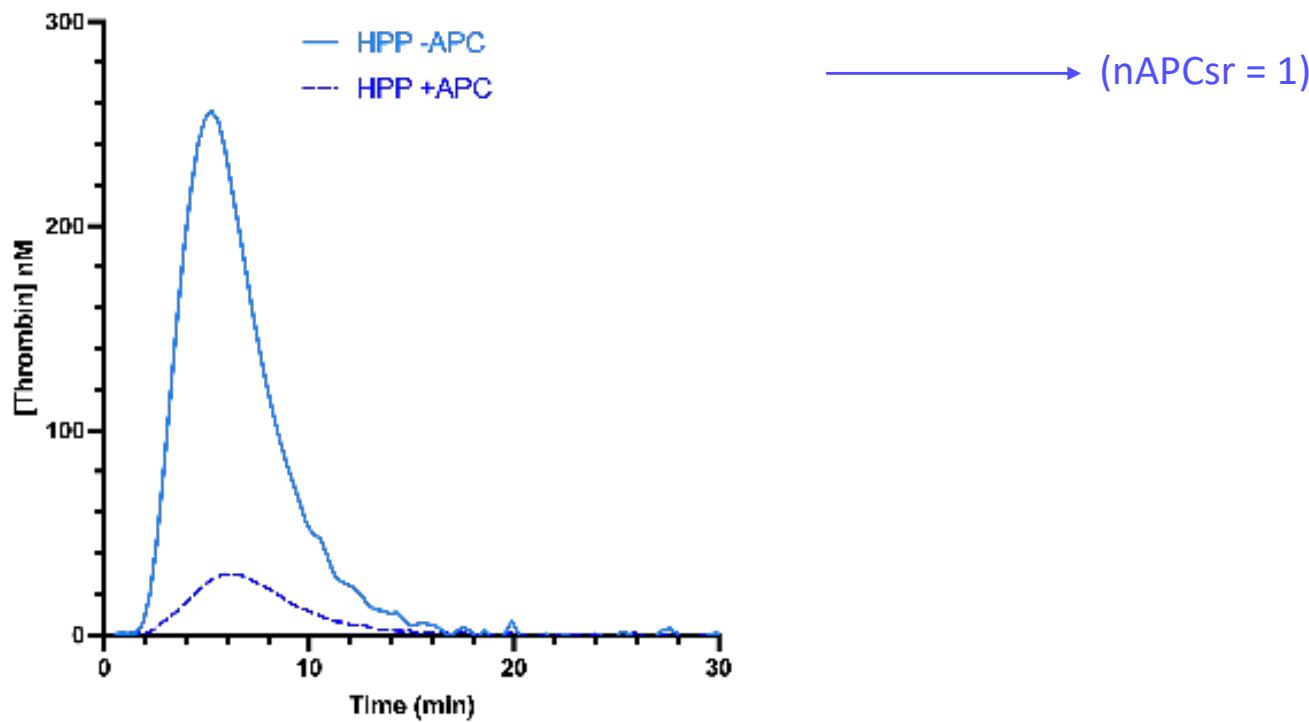


# Faible impact de E4 sur Hémostase et SHBG

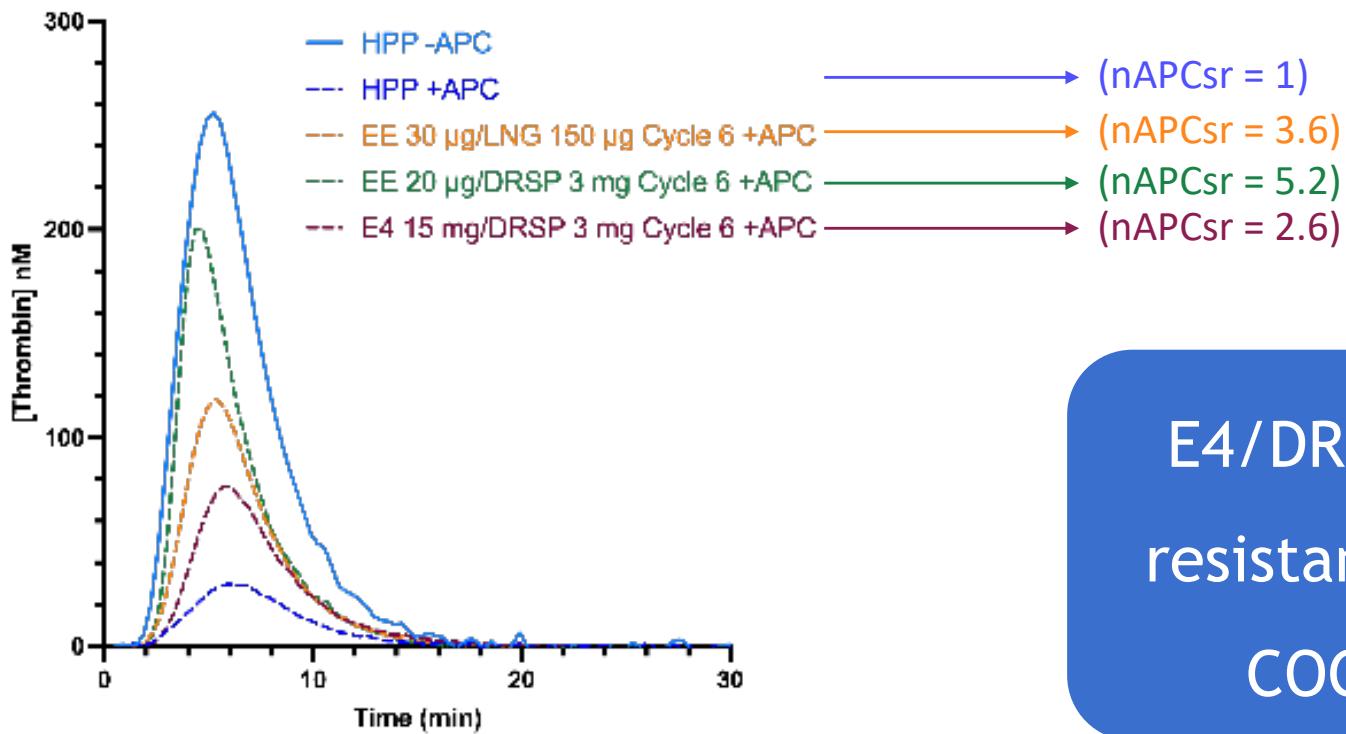


- Small increases of nAPCsr (+1.09) and SHBG (+45.4 nmol/L) were observed
- No changes were observed in the other hemostasis parameters

# Dosage de l'APC Résistance basée sur l'Endogenous Thrombin Potential



# Dosage de l'APC Résistance basée sur l'ETP: Action de différents COCs

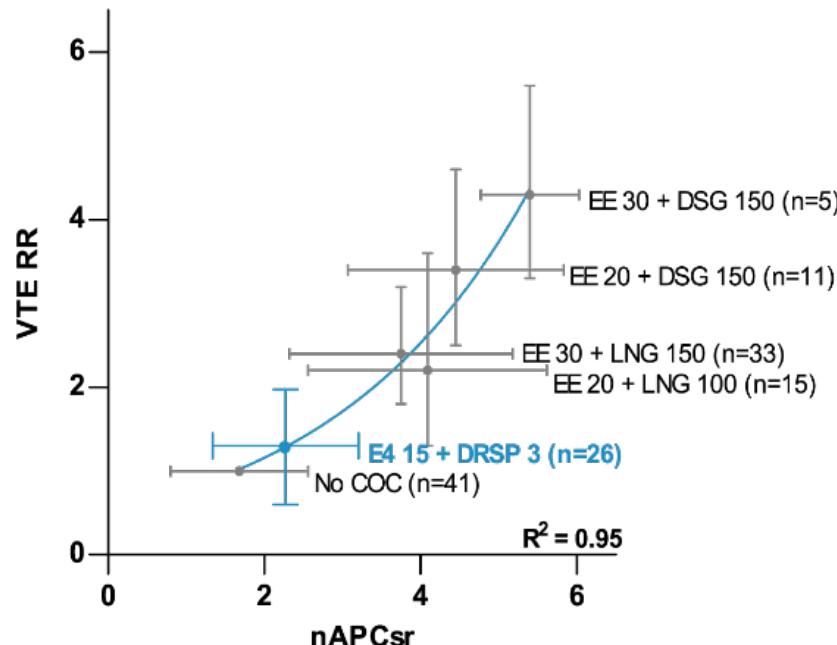
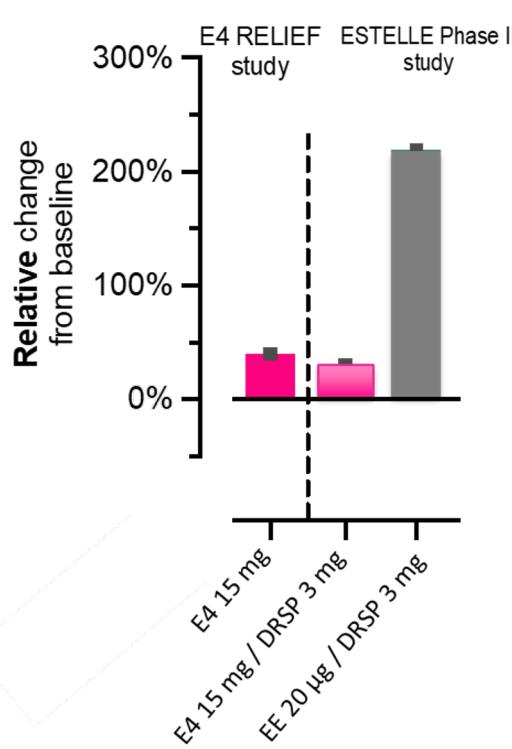


E4/DRSP led to less APC resistance than the other COC containing EE

# Risque de TEV avec différents COCs

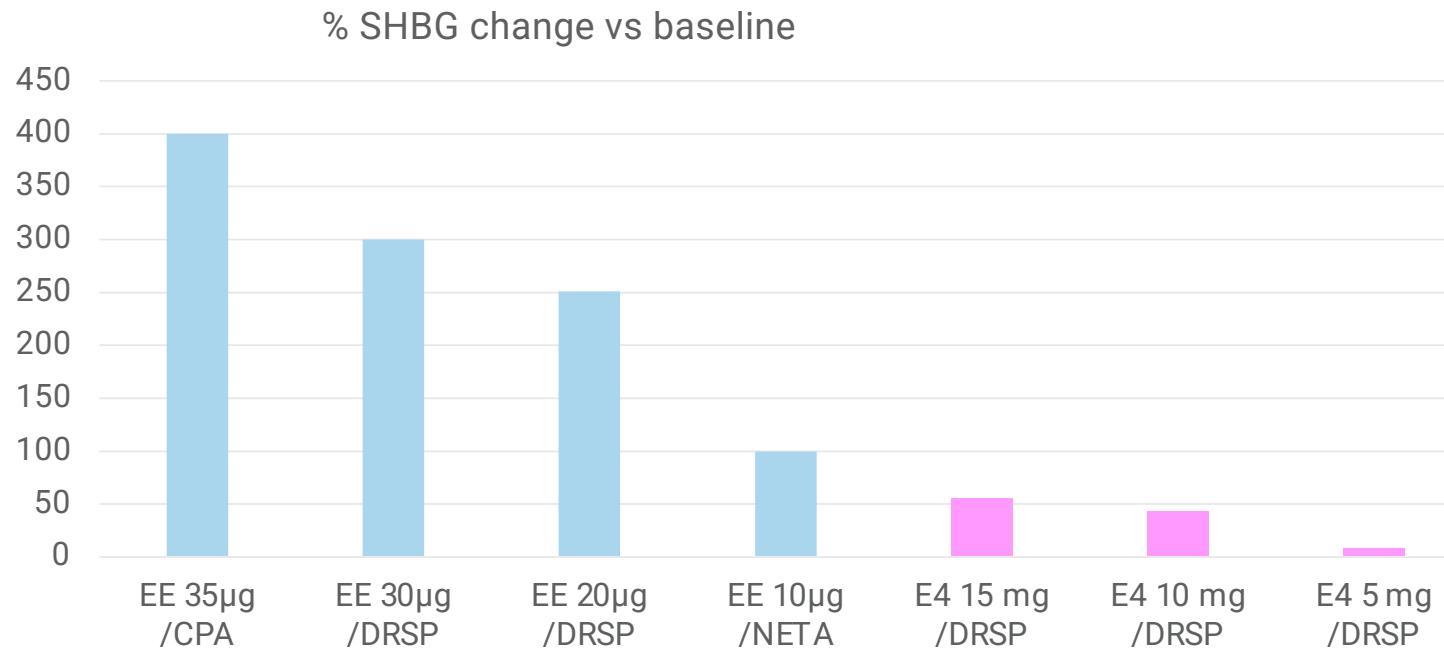
<u>Risk Group</u>	<u>Risk of VTE</u> (10,000 women-years)	<u>Reference</u>
Non-Users	2	EMA
Pregnancy and P-P	5-20+	Sultan, Br J Haematol
COCs 2 <sup>nd</sup> Gen	EE/LNG,EE/NETA,EE/NGM	5-7
COCs 3 <sup>rd</sup> Gen	EE/GSD,EE/DSG	9-12
COCs 4 <sup>th</sup> Gen	EE/DRSP	9-12
Assimilated 4 <sup>th</sup> Gen	EE/CMA,EE/CPA	Probably similar to 4 <sup>th</sup> Gen
EE/DNG	8-11	EMA
E2V/DNG	7 (vs 9.9 for EE/LNG)	INAS-Score
E2/NOMAC	2 (vs 3.0 for EE/LNG)	PRO-E2
E4/DRSP	?	PASS Required

# APC Résistance très limitée sous E4/DRSP



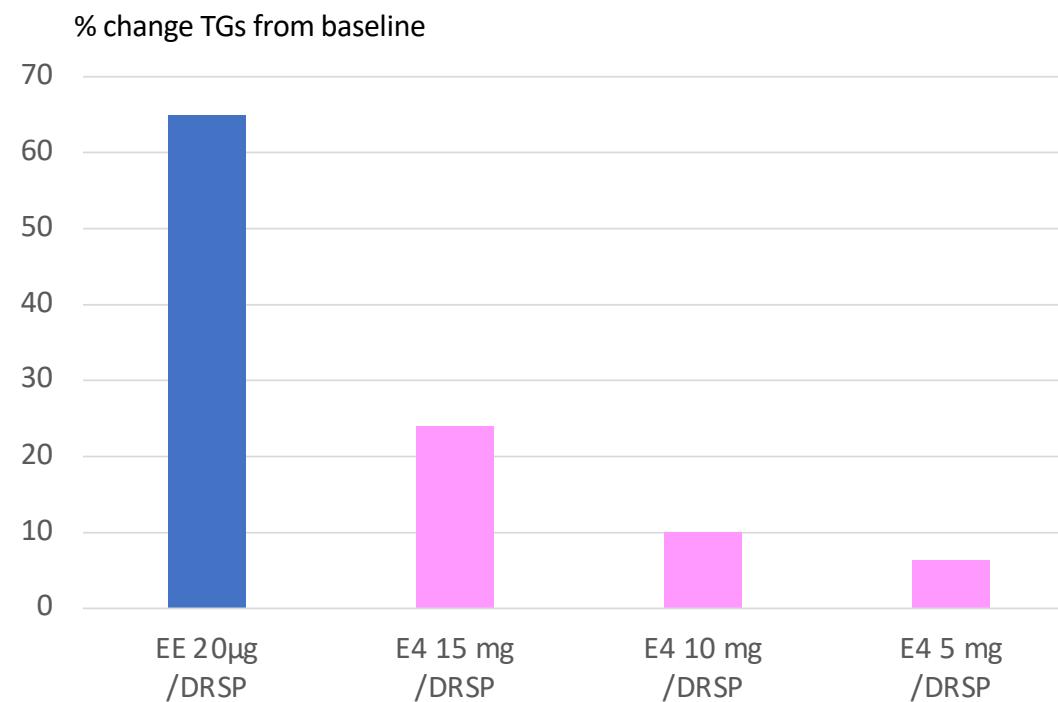
- An increase in the nAPCsr is related to an increased risk of venous thromboembolism (VTE)
- Mild increase in ETP-based APCr observed with E4
- When combined with DRSP, E4 has less pronounced effects on ETP-based APCr than EE

## II: Impact hépatique faible sur les protéines de transport: SHBG

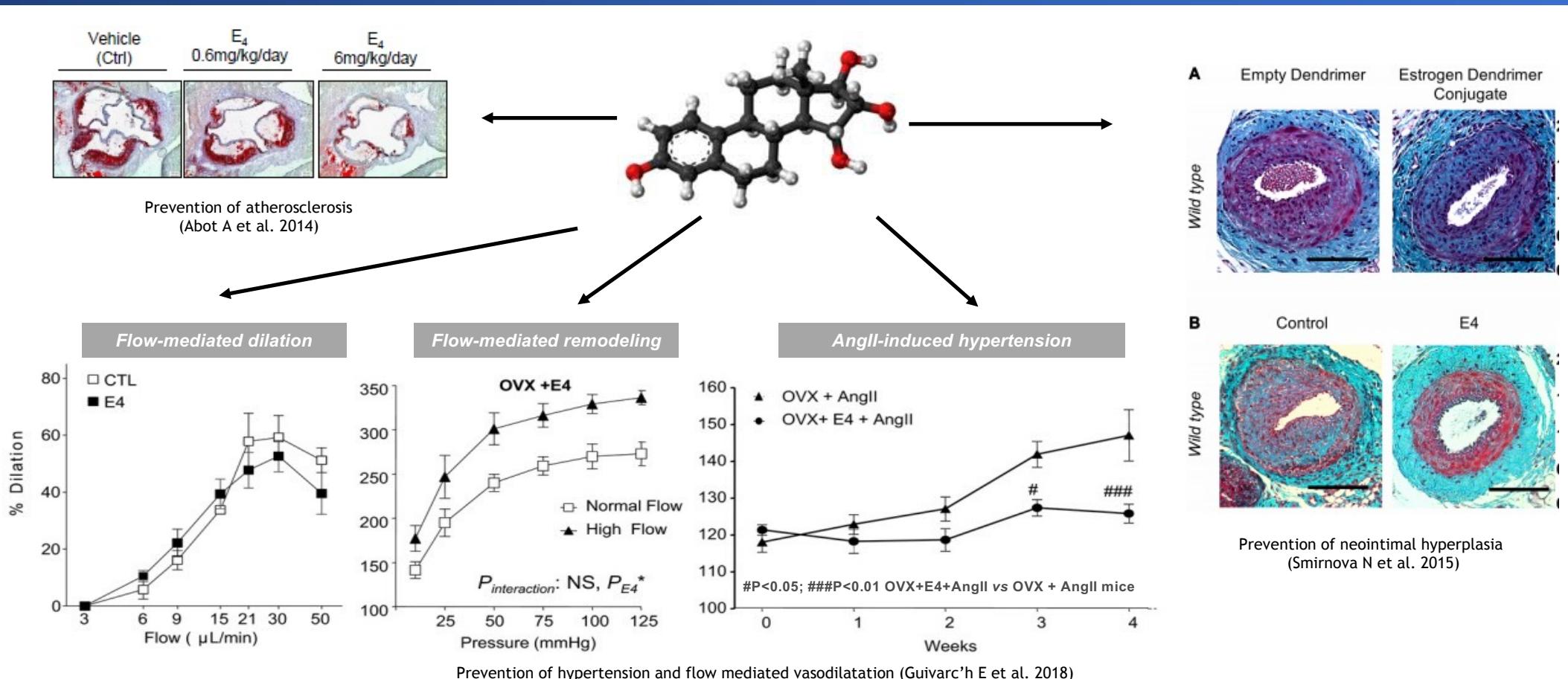


The synthesis of SHBG by the liver is stimulated by estrogens. SHBG measures total estrogenicity which is a factor influencing the risk of VTE. Ethinyl estradiol (EE), strongly induces hepatic SHBG production in a dose-dependent manner, resulting in elevated circulating blood levels of SHBG (100 to 300%). E4 causes only a 50% increase.

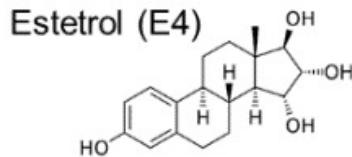
### III: Impact hépatique faible sur les lipides: Triglycérides



# Protection vasculaire par E4 via le ER $\alpha$ NUCLEAIRE



# Impact multiple de E4 sur le système cardiovasculaire

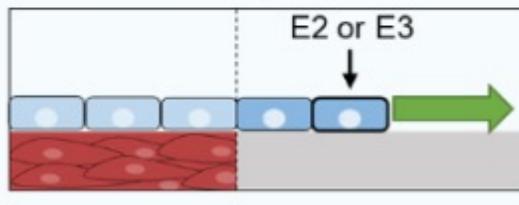


## Recognized advantages in mice:

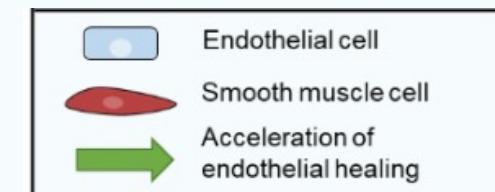
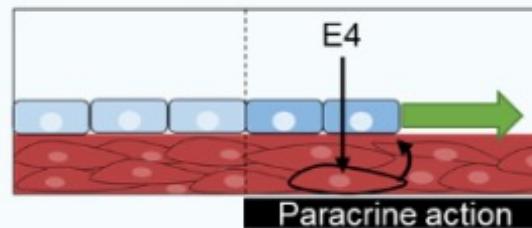
- + Atheroprotection
- + Prevent hypertension
- + Prevent neointimal hyperplasia
- + Promote flow-mediated remodelling
- + No increase in liver-derived coagulation factors

## + Improve Endothelial healing

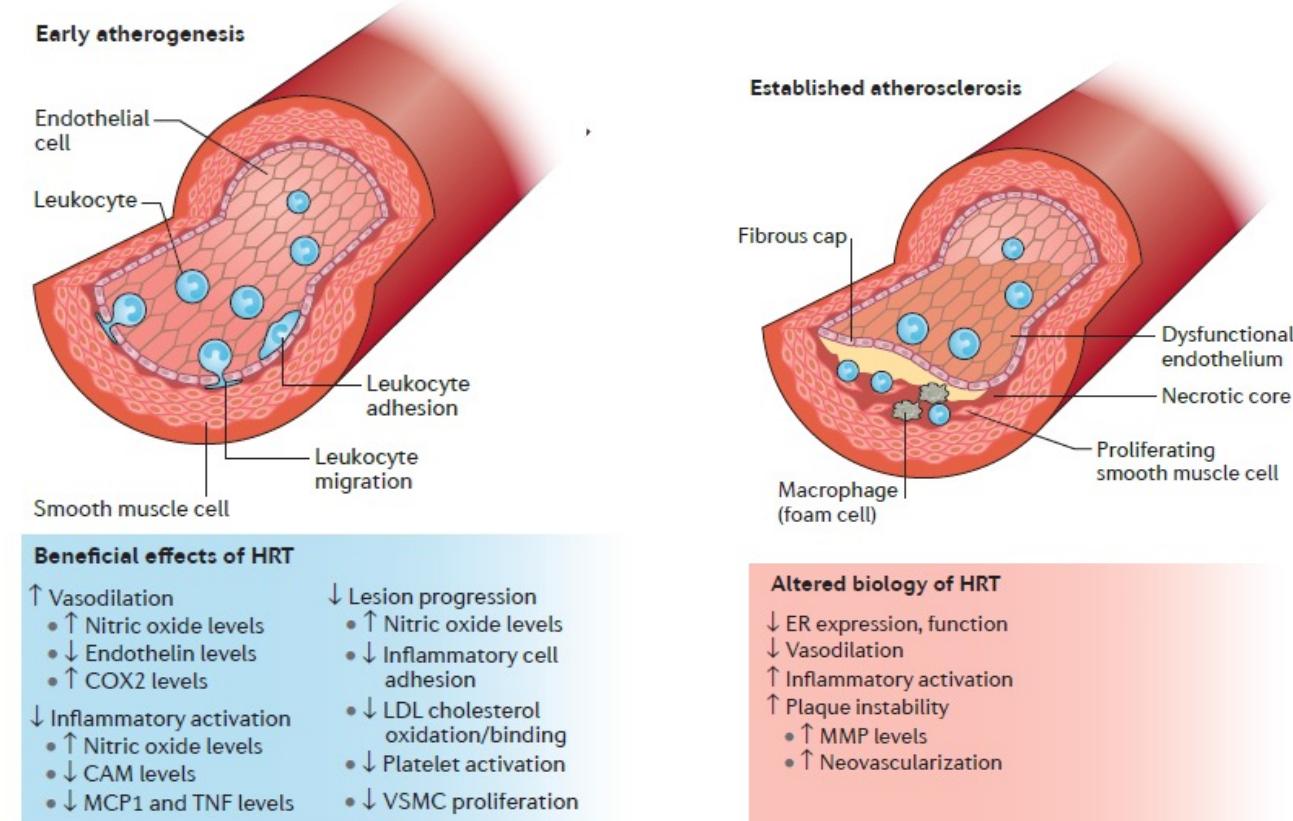
### Perivascular injury



### Endovascular injury

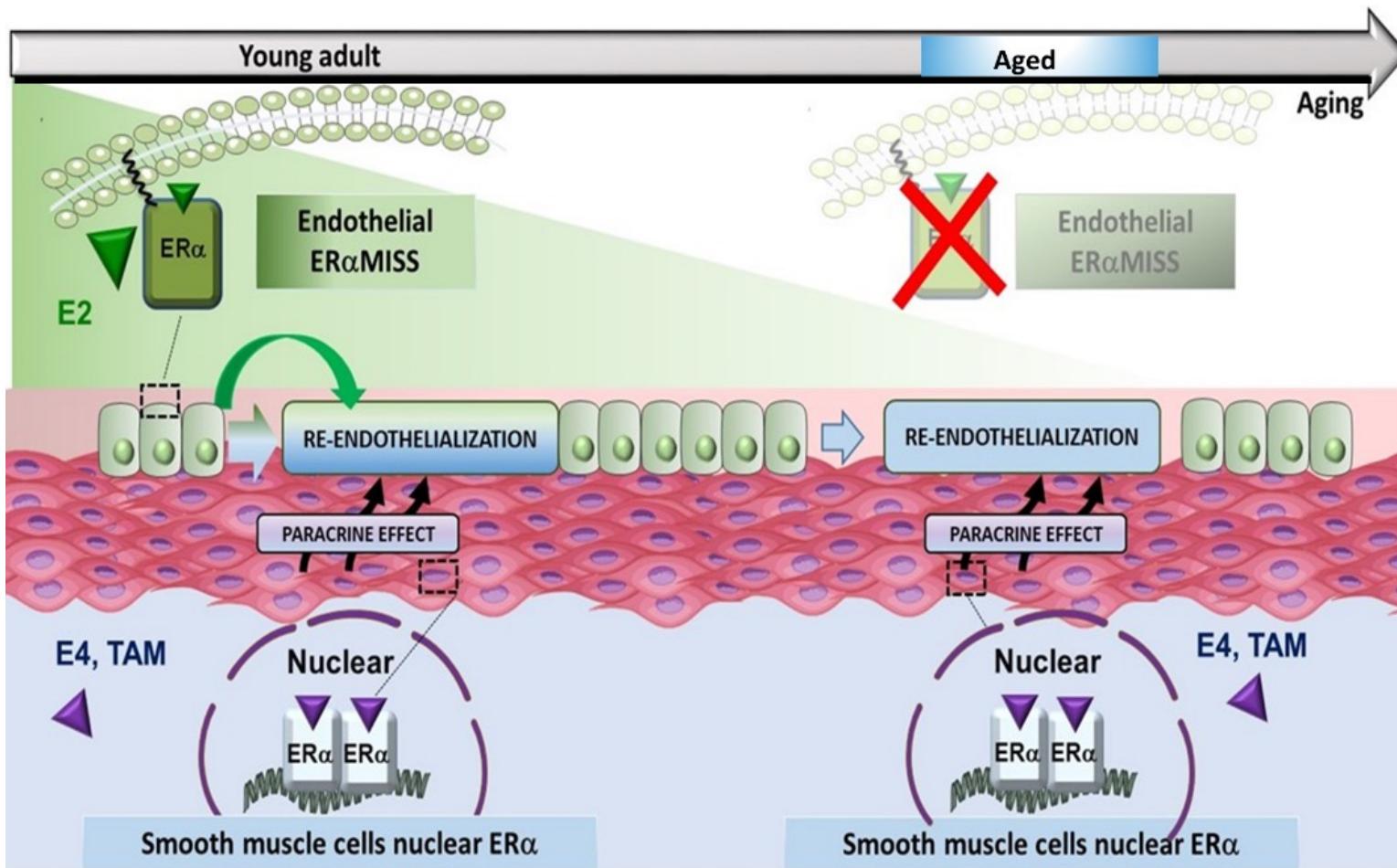


# Effets du traitement hormonal de la ménopause (THM) sur les vaisseaux: 2 stades d'athérosclérose



Effects of hormone-replacement therapy (HT) on the vessels in the two stages of atherosclerosis, with benefit in young arteries and altered biology in old arteries.

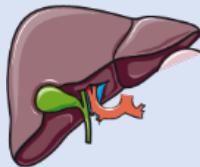
# Lors du vieillissement, protection endothéliale différente sous E2 et E4



Jean-François Arnal, PhD  
INSERM, Toulouse

# Avantages artériels et veineux de E4

## Venous advantage :

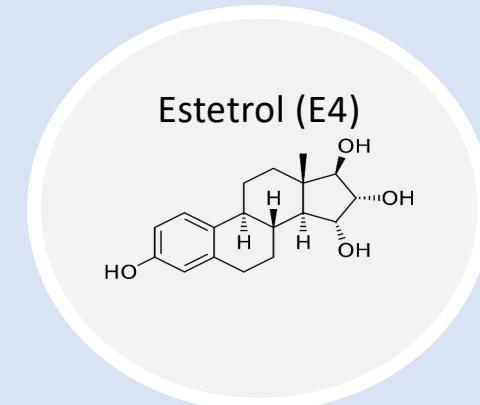
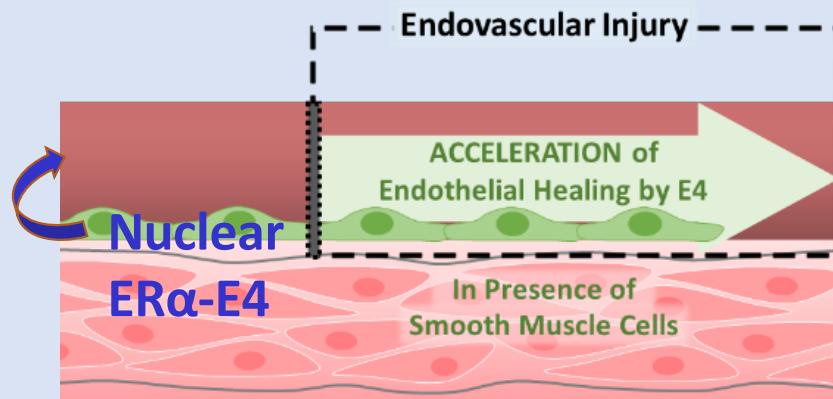


No change in liver hemostasis (coagulation factors)

No potential increase in venous thromboembolism

## Arterial advantage :

Promotion of Endothelial healing by E4 activation of nuclear ER $\alpha$  in smooth muscle cells



# E4: Impact limité sur le sein normal et cancéreux

<b><i>In vitro</i></b> 	<ul style="list-style-type: none"><li>• Prolifération cellulaire</li><li>• Invasion cellulaire</li><li>• Migration cellulaire</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>➤ L'E4 agit comme un œstrogène faible (1%) comparé à l'E2</li><li>➤ L'E4 est capable d'antagoniser les effets induits par l'E2</li></ul>
<b><i>In vivo</i></b> 	<ul style="list-style-type: none"><li>• Souris MMTV-PyMT</li><li>• Souris transplantée avec des cellules cancéreuses humaines</li><li>• Souris transplantées avec PDX</li><li>• Rats traités avec du DMBA</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>➤ L'E4 agit comme un œstrogène faible sur la croissance tumorale et présente un effet très limité à doses thérapeutiques</li><li>➤ L'E4 est capable d'antagoniser les effets induits par l'E2</li></ul>
<b>Humains</b> 	<ul style="list-style-type: none"><li>• Femmes pré- et post-ménopausées avec un cancer du sein précoce</li><li>• Femmes ménopausées avec cancer du sein avancé</li></ul>	<p><b>Données préliminaires:</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>➤ L'E4 augmente l'apoptose et n'induit pas la prolifération dans les tumeurs<sup>1</sup></li><li>➤ Effet antitumoral<sup>2</sup></li></ul>

## E2: Stimulation épithéliale mammaire via ER $\alpha$ MEMBRANAIRE mais voie non effective pour E4

- Souris mutée *C451A - ER $\alpha$* : n'exprime pas ER $\alpha$  membranaire et donc pas de MISS effect (\*)
- Développement mammaire des souris mutées légèrement affecté
- Fragments épithéliaux/cell basales mammaires de souris mutées greffés chez souris WT (Wild Type): Pas de croissance!
- C451A basal cells: réduction de la dégradation matricielle = altération migratoire des cellules mammaires

→ *E4 bloque l'activation ER $\alpha$  membranaire, réduisant les effets de E2 sur prolifération et invasion par les cellules épithéliales mammaires*

(\*) MISS = Membrane Initiated Steroid Signaling

## Take-home messages

- **Estetrol (E4)**
  - ✓ unique pharmacokinetic and metabolic profile
  - ✓ unique mode of action
  - ✓ first Native Estrogen with Selective Tissue activity (**NEST**)
- **The choice of estrogen influences the overall effect of combined oral contraceptives**

# Remerciements

- Merci à l'équipe Estetra/Mithra - Contraception: Maud Jost, Guillaume Chatel, Catherine Maillard, Mélanie Taziaux, Céline Gérard, Anne Gallez, Yvonne Oligschläger, Jean-Manuel Fontaine, Mitch Creinin, et nos collègues de diverses universités (~40) et particulièrement Jean-François Arnal (Fr), à travers le monde
- Merci à toutes et tous pour votre attention
- Lecture conseillée; “ Profile of Estetrol, a promising native estrogen for oral contraception and the relief of climacteric symptoms of menopause” par Gérard C et al (Toute l'équipe Mithra “et al”) in Expert Review of Clinical Pharmacology 2022 ; 15(2) : 121-137