

## ACTUALITÉS SUR LE TRAITEMENT HORMONAL CHEZ LA FEMME MÉNOPAUSÉE

par **Claude RIBOT, Florence TRÉMOLLIÈRES** et **Jean-Michel POUILLÉS** (Toulouse)

Le « traitement hormonal » de la ménopause (THM) se définit comme l'administration après la ménopause, d'un estrogène associé, chez les femmes n'ayant pas subi une hystérectomie, à un progestatif. Ce traitement est basé sur des schémas thérapeutiques qui ont varié en fonction de l'évolution de la pharmacologie et des habitudes thérapeutiques propres à chaque pays. Un des problèmes posés avec une acuité toute particulière à la suite des études récentes est de savoir si certains des risques attribués globalement au THM pourraient être diminués, voire abolis, avec l'utilisation d'un traitement hormonal véritablement « substitutif » (THS). Un tel traitement est basé sur l'utilisation des hormones humaines, le  $17\beta$  estradiol (E2) et la progestérone (P), administrées dans des conditions les plus proches de leur production physiologique et au bon moment par rapport à la ménopause. De nouvelles données confirment en effet l'importance de la voie d'administration, de la nature des hormones utilisées et surtout du moment du début du traitement par rapport à la ménopause, dans les effets observés.

**Mots-clé :** traitement hormonal de la ménopause, traitement hormonal substitutif, risque cardio-vasculaire, cancer du sein, ostéoporose.

En dehors de la de la correction du syndrome climatérique, la prévention de pathologies chroniques en partie estrogéno-dépendantes, telles l'ostéoporose, l'athérosclérose, voire les démences de type Alzheimer, devrait constituer la raison essentielle à vouloir conserver une certaine imprégnation estrogénique chez les femmes ménopausées à risque accru de développer ces pathologies. En fait, sous-tendu par des résultats prometteurs, ce concept de traitement ciblé a été rapidement élargi, notamment aux USA et sous diverses influences, à celui plus global d'un « traitement hormonal de la ménopause » (THM). Un tel traitement a été administré à une large échelle, souvent plus dans le cadre d'un objectif de « confort » (syndrome climatérique, libido, vieillissement cutanéomuqueux) que dans celui d'un traitement « médical » avec ses bénéfices et ses risques. Après une certaine période d'euphorie, le bilan de cette stratégie de masse, s'est avéré négatif. Et depuis le début des années 2000, à la suite des résultats de grandes études menées surtout dans les pays anglo-saxons, HERS (1), WHI (2), MWS (3), le THM connaît un discrédit. Les résultats de ces études, contrairement à ceux plus optimistes d'études d'observation antérieures, ont abouti à un constat globalement négatif dans la mesure où l'augmentation attendue et modérée du risque de cancer du sein n'était pas suffisamment contrebalancée par d'autres effets préventifs. Et cela notamment sur le plan vasculaire où n'a pas été enregistrée la diminution espérée des événements cardio- et cérébro-vasculaires, leur l'incidence ayant même plutôt tendance à

augmenter sous traitement. Les autorités de santé de plusieurs pays, dont la France, ont donc conseillé de limiter l'utilisation du THM à la correction à court terme du syndrome climatérique (4). Le traitement hormonal a ainsi perdu rapidement, sans être véritablement remplacé, le rôle de premier plan qu'il a exercé pendant près de 50 ans pour beaucoup de femmes ménopausées, notamment dans la prévention de l'ostéoporose. La chute de près de 70 % des prescriptions qui a été constatée en France et dans plusieurs pays (5), atteste de ce recul. Tout récemment enfin, la publication de données (*cf. infra*) étayant une diminution d'incidence des cancers du sein depuis la diminution des prescriptions de THM après la ménopause a relancé la polémique.

Cependant, une analyse plus critique de ces études, la publication de données nouvelles, le progrès des connaissances sur les mécanismes de l'action cellulaire des estrogènes ont bien montré que ce constat négatif, mais trop schématique, méritait d'être nuancé. Des concepts, surtout développés en France, mais souvent peu pris en compte ailleurs, tel le type de traitement hormonal utilisé ou sa date de début par rapport à l'ancienneté de la ménopause, sont reconnus aujourd'hui comme des éléments importants des effets observés, notamment sur le plan cardio-vasculaire. Des questions nouvelles sont apparues, comme l'effet de certaines associations estroprogestatives sur le risque de cancer du sein. Enfin des espoirs nouveaux, relatifs à l'effet neuroprotecteur de l'estradiol et à son rôle dans les pathologies neurodégénératives comme la maladie d'Alzheimer, sont générés par une intense recherche fondamentale et clinique.

Le but de cette revue sera d'apporter les données actuelles concernant l'effet des estrogènes sur l'os, le système cardio-vasculaire, le risque thrombo-embolique veineux, le sein et le cerveau et d'essayer d'en déduire quelles conséquences peuvent en être tirées dans notre pratique médicale.

Il paraît cependant utile de rappeler tout d'abord ce que l'on entend par THM et d'insister sur le fait que tous les estrogènes (et les progestatifs) ne sont pas équivalents en terme d'actions biologiques.

#### **TRAITEMENT HORMONAL DE LA MÉNOPAUSE (THM) ET TRAITEMENT HORMONAL SUBSTITUTIF (THS)**

On englobe sous le terme de « traitement hormonal de ménopause » (THM) différents schémas thérapeutiques, associant, chez les femmes ayant conservé leur utérus, estrogènes et progestatifs et destinés à compenser les effets de l'arrêt de la production hormonale ovarienne. Les modalités de ces schémas d'hormonothérapie ont varié en fonction de l'évolution de la pharmacologie et des habitudes thérapeutiques propres à chaque pays. Ainsi, aux USA, le THM le plus largement utilisé a été basé sur l'association des estrogènes conjugués équinés (ECE) par voie orale et d'un progestatif de synthèse (PGS), l'acétate de médroxyprogestérone (MPA). En France, au contraire, la préférence a toujours été donnée et depuis plusieurs années au 17 $\beta$ -estradiol (E2) associé à la progestérone (P) ou à des progestatifs de synthèse réputés peu ou pas androgéniques (type nor-pregnanes, notamment). Il apparaît donc clair que l'utilisation du terme générique de « THM » est critiquable, car il fait abstraction de toutes les différences existant entre les molécules utilisables et laisse supposer que les résultats seront toujours similaires, quels que soient le type de molécule et le mode d'administration utilisés. Or, l'action tissulaire des stéroïdes sexuels dépend de mécanismes complexes aux niveaux, cellulaire, métabolique et génétique et ces éléments doivent, bien sûr, être pris en compte dans la nature des effets observés.

De plus le concept de « substitutif » reste souvent une source de confusion. De façon générale, tout « traitement hormonal substitutif » a pour objectif de pallier l'insuffisance ou la carence d'une production hormonale. Depuis de nombreuses années, grâce aux progrès de la pharmacologie, la substitution d'une insuffisance hormonale dans l'espèce humaine ne fait plus appel aux « extraits de glande » d'origine animale (extraits thyroïdiens, surrénaux, insuline porcine ou bovine etc.) ou humaine (extraits hypophysaires). Elle utilise exclusivement des hormones structurellement identiques aux hormones humaines (thyroxine, hydrocortisone, insuline, hormone de croissance etc.), dont la synthèse par techniques chimiques ou biologiques constitue une garantie en terme de structure, de pureté et de stabilité d'activité biologique. En ce qui concerne la fonction gonadique et plus précisément la fonction ovarienne, il faut remarquer que ce principe général de substitution n'est pas appliqué pour l'administration des stéroïdes sexuels chez la femme ménopausée et à côté du  $17\beta$ -estradiol et de la progestérone, d'autres estrogènes et différents PGS restent couramment utilisés dans le monde dans le cadre du THM. En dehors de cet aspect capital que constitue l'identité structurelle avec les hormones humaines des « hormones de remplacement », le concept de « substitution » pourrait même être élargi à la chronologie de leur administration. La variation des effets tissulaires en fonction de la chronobiologie de l'exposition hormonale est une donnée classique de l'endocrinologie. Par exemple, la production pulsatile du GnRH stimule la production des gonadotrophines, contrairement à une administration permanente qui l'inhibe. De même, la production continue d'hormone parathyroïdienne a un effet catabolique sur l'os alors que son administration intermittente a un effet anabolique. En ce qui concerne les stéroïdes sexuels, il est important de rappeler que contrairement à l'homme où l'exposition à ces hormones est, depuis la puberté, continue et permanente, une telle exposition chez la femme est cyclique et séquentielle au cours de sa vie reproductive. Une administration concomitante et continue d'estrogènes et de progestérone, chez une femme ménopausée, devrait donc également être prise en compte dans l'analyse des effets observés. Enfin, le choix de la voie d'administration n'est pas sans importance du fait de l'impact hépatique de la prise orale.

Ainsi, il nous semblerait logique que le terme de « traitement hormonal substitutif » (THS) ne s'applique qu'aux traitements utilisant des hormones structurellement identiques aux hormones humaines et administrées dans les conditions se rapprochant au plus près de la situation physiologique, de façon cyclique et de préférence par voie parentérale.

## DONNÉES ACTUELLES

### AU PLAN OSSEUX

***L'efficacité antifracturaire du THM même dans des situations de faible risque a été confirmée de manière irréfutable avec l'étude WHI et ceci pour tous les types de fracture par fragilité*** (tableau 1).

Le niveau de réduction du risque est le même dans le bras « estro-progestatifs » (6) et le bras « estrogènes » (7). En terme de risque absolu, l'épargne fracturaire est de 47 fractures pour 10 000 femmes traitées et par an. Cette épargne est probablement plus importante, car aucune radiographie vertébrale n'avait été réalisée de manière systématique dans l'étude WHI, alors qu'on sait que près de deux tiers des tassements vertébraux sont cliniquement asymptomatiques. Par ailleurs, il est important de souligner que la population traitée était à faible risque d'ostéoporose. En effet, les femmes qui

avaient des antécédents fracturaire récents et/ou la notion d'un niveau de densité minérale osseuse (DMO) déjà abaissée avaient été exclues de l'essai WHI et que, sur les 1 025 femmes qui avaient eu une ostéodensitométrie, seules 10 à 12 % présentaient une ostéoporose selon les critères de l'OMS (T-score < -2,5) à un âge moyen de 63 ans. Cette efficacité antifracturaire du THM est d'autant plus intéressante que le risque fracturaire dans les 10-15 ans suivant la ménopause est souvent sous-estimée. Le fait que l'incidence des fractures ostéoporotiques augmente surtout après 65-70 ans, a toujours conduit à privilégier une intervention thérapeutique tardive, c'est-à-dire dans des situations de risque fracturaire avéré, du fait de l'âge et de la diminution de la DMO. En fait, l'utilisation de modèle de prédiction développé par J. Kanis (8) dans une population de femmes danoises récemment ménopausées (9) a montré ses limites puisque le nombre de fractures réellement observées a été près du double du nombre prédit. De plus, il est intéressant de remarquer que la discordance entre « nombre réel » de fractures et « nombre prédit » était la plus marquée chez les femmes ostéopéniques âgées (-1,5 < T-score < -2,5). D'autres études de cohorte chez des femmes ménopausées telles l'étude NORA (10) aux USA, l'étude de Rotterdam (11) ou l'étude OFELY (12) en France avaient déjà permis d'apporter ces deux informations intéressantes :

- 1) le nombre de fractures ostéoporotiques observées dans la tranche d'âge 50-65 ans est loin d'être négligeable ;
- 2) l'ostéopenie, associée à d'autres facteurs de risque, et parce qu'elle est une situation plus fréquente que l'ostéoporose à cet âge, est la principale pourvoyeuse des fractures.

Tableau 1. – **Effet du THM sur l'incidence fracturaire.**

| Fractures        | WHI I            |                       | WHI II           |                       |
|------------------|------------------|-----------------------|------------------|-----------------------|
|                  | Taux/10 000 F/an | HR<br>[IC 95 %]       | Taux/10 000 F/an | HR<br>[IC 95 %]       |
| Poignet          | - 18             | 0,67<br>[0,54 - 0,87] | ND               | ND                    |
| Vertèbres*       | - 6              | 0,66<br>[0,45 - 0,98] | - 6              | 0,62<br>[0,42 - 0,93] |
| Col du fémur     | - 5              | 0,67<br>[0,47 - 0,96] | - 6              | 0,61<br>[0,41 - 0,91] |
| Toutes fractures | - 47             | 0,76<br>[0,69 - 0,83] | - 56             | 0,70<br>[0,63 - 0,79] |

\* Fractures symptomatiques.

D'après JAMA 2003 et JAMA 2004.

**Les conséquences précoces de la carence estrogénique sur la micro-architecture osseuse et leur prévention par le THM ont été documentées.**

Alors qu'une multitude d'essais cliniques randomisés avait démontré la diminution rapide du contenu minéral osseux après la ménopause, paradoxalement, des données prospectives sur les variations de l'architecture osseuse au cours de la ménopause, étaient pratiquement inexistantes. Récemment, une analyse longitudinale de l'état osseux de femmes suivies par biopsies osseuses au travers de leur ménopause a permis de mettre en évidence des altérations très précoces de la micro-architecture trabéculaire, caractérisées par un amincissement des travées et une diminution de leur connectivité (13). Ces modifications architecturales rapides vont faire le lit de l'ostéoporose chez des femmes au squelette déjà un peu fragilisé par un capital minéral osseux faible. Elles sous-tendent l'effet de prévention des estrogènes et justifient leur administration précoce.

## AU PLAN THROMBOEMBOLIQUE VEINEUX

### ***L'importance de la voie d'administration de l'estradiol (orale vs cutanée) est renforcée.***

Toutes les molécules à effet estrogénique données par voie orale (estrogènes, SERMs,) augmentent le risque thromboembolique veineux (TEV). Plusieurs études d'observation avaient permis d'évaluer que ce risque était pratiquement trois fois plus important chez les femmes ménopausées traitées que chez celles non traitées de même âge (14). Cette notion a été depuis, confirmée par les essais cliniques HERS et WHI, avec un risque relatif (RR) de thrombose veineuse profonde ou d'embolie pulmonaire respectivement, de 2,7 (IC 95 % = 1,4-5,0) et de 2,11 (IC 95 % = 1,26-3,55). Elle a été également confirmée pour d'autres substances à effet estrogénique tels les SERMs (étude MORE) ou le RR était de même amplitude (15). Depuis de nombreuses années une attention toute particulière a été apportée, surtout en France, à l'importance de la voie d'administration des estrogènes et au développement de voies non-orales (cutanée, transdermique ou nasale), susceptibles d'une meilleure tolérance métabolique (16, 17).

Ce concept développé depuis de nombreuses années, mais longtemps ignoré aux USA où une administration orale a toujours été privilégiée, apparaît de plus en plus conforté. Une méta-analyse récente conduite par l'équipe de Y. Scarabin et al. (18) a retenu 17 études [8 études d'observation (EO) et 9 essais randomisés contre placebo (ER)] évaluant la relation THM et risque thromboembolique veineux (TEV). Pris dans leur ensemble, les résultats montrent que contrairement aux estrogènes donnés par voie orale :

- les estrogènes donnés par voie non orale n'augmentent pas le TEV. Le nombre de données est cependant relativement faible ;
- le risque thromboembolique veineux est le plus élevé au cours de la 1<sup>ère</sup> année de traitement, en cas de traitement oral.

Il existe un sur-risque chez les femmes obèses et chez celles qui présentent une mutation thrombogénique en cas de traitement par voie orale (ER).

Un des points les plus actuels de cette relation, concerne le rôle des progestatifs associés. En effet, l'addition de progestatifs et même le type de progestatif pourrait constituer un des déterminants du risque TEV, comme en témoignent les résultats observés dans les études WHI, WISDOM (19) et ESTHER (20, 21). Dans l'étude WHI, le risque TEV était plus élevé (RR : 1,33 ; IC 95 % = 0,86-2,08) dans le bras « estroprogestatif » (Estrogènes conjugués équinés [ECE] et acétate de medroxyprogestérone [MPA]) que dans le bras « estrogènes » (RR : 1,33 ; IC 95 % = 0,86-2,08). Cette tendance est retrouvée dans l'étude WISDOM, avec un RR de 2,39 (IC 95 % = 0,62-9,24) dans le groupe ECE + MPA et un RR de 2,39 (IC 95 % = 0,62-9,24) dans le groupe « estrogènes ». Enfin dans l'étude française ESTHER, de type cas-témoins, le risque d'accident TEV n'était pas augmenté de façon significative chez les femmes ménopausées traitées par l'estradiol transdermique (RR = 0,95 ; IC 95 % = 0,5-1,6), alors qu'il était triplé (RR = 3,5 ; IC 95 % = 1,8-6,8) chez les femmes ayant reçu l'estradiol par voie orale. De plus l'influence du type de progestatifs se dégage, puisque le risque de TEV, exprimé par l'« odd ratio » (OR), n'est pas augmenté (OR : 0,7 ; IC 95 % = 0,3-1,9) chez les femmes recevant de la progestérone micro-nisée ou un pregnane contrairement à celles qui recevaient un nor-pregnane (OR : 3,9 ; IC 95 % = 1,5-10).

### ***La biologie apporte des éléments de plausibilité***

Les perturbations de l'hémostase liées à l'administration orale des estrogènes, y compris pour l'estradiol, ont été bien documentées au plan biologique. Elles se caractérisent par une diminution des inhibiteurs de coagulation (activateur tissulaire du plasminogène [tPA], et son inhibiteur, le plasminogène activator inhibitor de type 1 [PAI-1]), une augmentation des facteurs de coagulation (Facteur VII antigen [FVIIAG], Facteur VII activé [FVIIa], fragment 1+2 de la prothrombine [F1+2]) et une augmentation de l'activité fibrinolytique (D-Dimères). Ces perturbations sont liées à l'effet de premier passage hépatique qui augmente les synthèses protéiques. De plus, une résistance acquise à la protéine C a été mise en évidence en cas de traitement par voie orale (22), mais non en cas d'utilisation de la voie transdermique (23-26).

Toutes ces différences témoignent d'un impact différent des voies d'administration sur l'hémostase et apportent une explication rationnelle aux effets observés. Bien que le nombre absolu d'accidents cliniques soit faible et surtout observé en début de traitement, leur survenue pèse d'un poids non négligeable dans la balance globale bénéfice/risque du THM. Le choix de la voie d'administration constitue ainsi un élément-clé dans la pratique thérapeutique.

### **AU PLAN ARTÉRIEL**

#### ***L'importance de la relation début du traitement hormonal/ancienneté de la ménopause est documentée***

L'effet aggravant du THM sur le risque cardio-vasculaire qui a été mis en évidence dans les études prospectives (HERS, WHI) menées aux USA, a constitué une déception d'autant plus grande qu'un effet bénéfique était attendu, non seulement d'après les résultats positifs de nombreuses études d'observation, mais également d'après les multiples données biologiques ou expérimentales. Cet effet d'aggravation du risque cardio-vasculaire dans ces populations trouve probablement une explication dans une administration trop tardive du THM, chez des femmes ayant une athérosclérose avérée (HERS) ou infra-clinique (WHI). L'analyse détaillée, en fonction de l'âge et de l'ancienneté de la ménopause, par les auteurs de la WHI, des accidents cardio-vasculaires observés dans cette étude montre que le risque d'accidents coronariens n'était pas augmenté chez les femmes traitées de moins de 60 ans ou chez celles qui avaient commencé leur traitement moins de 10 ans après leur ménopause (27, 28). De plus, l'utilisation de la voie orale, qui par ses effets hépatiques amplifie la production de facteurs pro-inflammatoires, ainsi que l'association de PGS, tel le MPA qui s'oppose à certains effets protecteurs des estrogènes sur la paroi artérielle et qui a un effet pro-inflammatoire, sont susceptibles d'aggraver la situation cardio-vasculaire de femmes déjà à risque. De fait, plusieurs études randomisées ont comparé, dans de petits groupes de femmes ménopausées et sur des périodes courtes, les effets de l'estradiol donné par voie orale ou non-orale, associé ou non à un progestatif, sur différents marqueurs intermédiaires du risque cardio-vasculaire (29-35). Toutes ces études rapportent un effet neutre ou plus favorable du THS par rapport à tout autre schéma thérapeutique sur ces marqueurs, qu'il s'agisse de paramètres métaboliques (lipoprotéines, triglycérides, résistance à l'insuline), vasculaires (36, 37), inflammatoires (CRP) ou de l'hémostase (cf. risque thrombo-embolique veineux). Ces différences apparaissent cependant pour l'essentiel explicable par la voie d'administration des estrogènes et l'absence de premier passage hépatique associée à la voie parentérale. En ce qui concerne la fonction vasculaire, évaluée par des marqueurs échographiques chez des femmes saines (index de pulsa-

tilité) les rares données comparant voies orale et non orale ne sont pas concluantes. Une autre question qui reste en suspens, comme pour le risque thrombo-embolique veineux, est celle de l'effet du type de progestatif associé. Dans l'ensemble et contrairement au MPA, la progestérone n'a pas d'effets métaboliques néfastes documentés.

### ***Une meilleure connaissance des effets des estrogènes sur la biologie vasculaire permet de mieux comprendre ces résultats***

Les mécanismes d'action des estrogènes sur l'endothélium vasculaire et le système immuno-inflammatoire font l'objet depuis quelques années d'une recherche intense, stimulée par les résultats paradoxaux entre clinique et biologie (38, 39). Les effets vasculaires des estrogènes constituent un domaine où le progrès des connaissances a, sans contexte, été le plus marqué dans cette dernière décennie. Ces travaux nous permettent aujourd'hui de mieux comprendre cet apparent paradoxe entre un effet protecteur démontré *in vitro* ou dans des modèles animaux, et l'absence d'effet protecteur (voire un effet nocif) observé dans des études de prévention secondaire comme HERS, ou de prévention primaire comme WHI.

Globalement, l'hypothèse actuellement privilégiée par une meilleure connaissance des effets vasculaires et pro-inflammatoires des estrogènes serait que leur administration tardive, plusieurs années après la ménopause, sur un endothélium vasculaire déjà siège d'un athéromatose infra-clinique, pourrait favoriser la rupture d'une plaque d'athérome instable entraînant ainsi des accidents vasculaires en début de traitement. Une synthèse du rôle des estrogènes sur la biologie vasculaire a été récemment publiée par l'équipe toulousaine de J.-F. Arnal (40) ; elle permet de faire l'état des lieux sur les connaissances et les hypothèses actuelles dans ce domaine. Cette revue rappelle le rôle protecteur de l'estradiol sur l'endothélium vasculaire, son importance dans la réparation d'un endothélium lésé, les mécanismes de son effet pro-inflammatoire, qui va favoriser le détachement de la plaque d'athérome, enfin le rôle-clé du récepteur aux estrogènes et de ses polymorphismes dans la médiation des effets vasculaires de l'estradiol. L'ensemble de ces données montre clairement l'importance de la période d'initiation d'un traitement hormonal THM par rapport à l'ancienneté de la ménopause et posent le problème des moyens de détection précoce de l'athéromatose infra-clinique (41).

## AU PLAN MAMMAIRE

### ***L'incidence du cancer du sein a diminué depuis la baisse des prescriptions du THM***

Globalement, de nombreuses études, qu'il s'agisse d'études d'observation ou d'études prospectives, ont conduit à conclure que le risque relatif de cancer du sein serait majoré d'environ 30 % chez les femmes ménopausées recevant un THM. La diminution de l'incidence de ce cancer observée depuis la diminution des prescriptions de THM renforce cette donnée. Aux USA, en 2003, une diminution de 12 % de l'incidence du cancer du sein a été observée assez rapidement, chez environ 50 % des femmes traitées, après l'arrêt des traitements hormonaux de ménopause à la suite de la publication de la WHI. Cette baisse touche surtout les femmes ménopausées et les cancers ayant des récepteurs à l'estradiol (RE+) (42).

En France, la publication récente d'Hubert Allemand et coll. (43) basée sur les déclarations à la CNAM des prises en charge à 100 % au titre de l'ALD suggère également et pour la première fois, une diminution de l'incidence du cancer du sein,

surtout à partir de 2004, faisant suite à une augmentation de l'incidence d'environ 13 % (2,5 % par an) observée dans les années précédentes, entre 2000 et 2004. Une telle augmentation pouvait être en partie liée à la mise en route du programme de dépistage, le nombre d'examen ayant augmenté de 335 % entre 2000 et 2006. La diminution d'incidence observée était de 6,0 % ( $p < 0,001$ ) entre 2004 et 2005 et de 5,3 % ( $p < 0,001$ ) entre le premier semestre 2005 et le premier semestre 2006. Ces auteurs considèrent que la diminution drastique des prescriptions du THM, de l'ordre de 62 % entre 2002 et 2006, est le seul facteur environnemental qui serait susceptible d'expliquer cette tendance. Cependant les facteurs susceptibles d'expliquer cette récente variation de tendance restent encore discutés (44, 45).

### ***La relation entre THM et cancer du sein reste toujours discutée***

Le fait que les estrogènes en administration prolongée puissent, chez certaines femmes, promouvoir la croissance de tumeurs mammaires, surtout celles qui sont hormono-dépendantes, n'est guère contestable. Et dès 1932, c'est-à-dire moins de 10 ans après qu'Allen et Doisy aient établi l'existence des estrogènes chez la femme et décrit leurs effets, le français A. Lacassagne fut le premier à rapporter l'augmentation de l'incidence des cancers mammaires chez les souris traitées par estrogènes. Cette relation entre cancer du sein et niveau d'imprégnation estrogénique a été étayée par l'utilisation de dosages ultra-sensibles de l'estradiol plasmatique. Ainsi, dans l'étude MORE, le risque de cancer du sein dans le groupe placebo est 6,8 fois plus élevé (IC 95 % = 2,2-21,0) chez les femmes ayant un taux d'estradiol supérieur à 10 pmol/l que chez celles ayant un taux indétectable (46).

En fait la question centrale, c'est-à-dire celle de la capacité d'un petit nombre seulement de femmes ménopausées recevant un THM à développer un cancer du sein reste entière. Dans cette pathologie multifactorielle que constitue le cancer du sein, où s'intriquent des éléments endogènes qui conditionnent la réponse tissulaire aux estrogènes (métabolismes enzymatiques, distribution tissulaire des isoformes des récepteurs aux estrogènes et à la progestérone, prédisposition génique) et des facteurs environnementaux (nutrition, stress, tabagisme, etc.) le poids spécifique du traitement hormonal reste toujours débattu.

Cependant, trois questions intéressantes et nouvelles ont émergé avec plus de netteté des travaux récents. Ces questions concernent respectivement l'association estro-progestative, la nature de l'estrogène et le mode d'administration du traitement.

### ***Effet de l'association estro-progestative :***

Le risque de cancer du sein serait plus élevé chez les femmes recevant un traitement estro-progestatif que chez celles qui reçoivent seulement des estrogènes. C'est actuellement la question soulevée par les résultats des études WHI, MWS et E3N-EPIC, qui recourent des informations issues de plusieurs études d'observation. Rappelons en effet, que ce concept n'est pas neuf puisqu'il avait été évoqué dès 1989 à la suite des travaux de Bergvist (47).

Le risque de cancer du sein, qui est significativement augmenté dans l'étude WHI par l'association ECE + MPA au terme de 5,2 années de traitement (RR = 1,26 ; IC 95 % = 1,00-1,59), n'est pas modifié, voire légèrement diminué, chez les femmes hystérectomisées n'ayant reçu que des ECE (RR = 0,77 ; IC 95 % = 0,59-1,01) après 6,8 années de suivi. De même, dans la MWS, pour une durée moyenne de traitement de 2,6 ans, ce risque est respectivement de 1,30 (IC 95 % = 1,22-1,38) chez les utilisatrices d'estrogènes seuls contre 2,0 (IC 95 % = 1,91-2,09) en cas de traitement



estro-progestatif. Enfin, dans la cohorte E3N-EPIC (48), le risque de cancer est de 1,1 (IC 95 % = 0,8-1,6) avec les estrogènes seuls contre 1,3 (IC 95 % = 1,1-1,5) pour les associations estro-progestatives, pour une durée moyenne de traitement de 2,8 ans. Dans l'ensemble le sur-risque annuel de cancer du sein serait de l'ordre de 1 % pour les estrogènes seuls et de 5,5 % pour les associations estro-progestatives (49). Il faut, certes, souligner que les populations traitées par estrogènes seuls n'ont probablement pas le même profil gynécologique que celles qui ont reçu l'association estrogène + progestatif, du fait de l'ovariectomie bilatérale souvent associée à l'hystérectomie et donc de l'imprégnation estrogénique résiduelle plus faible. Mais, au-delà des problèmes méthodologiques, un certain nombre d'interrogations demeurent :

L'effet « aggravant » du progestatif est-il un effet général ou spécifique à certains PGS ?

Les données épidémiologiques recueillies surtout dans les pays anglo-saxons et aux USA qui utilisent essentiellement le MPA ou les PGS dérivés de la nor-testostérone ne permettent pas de répondre à cette question. Certaines études cependant suggèraient une différence de niveau de risque selon le type de PGS. Ainsi, dans l'étude de C. Magnuson et al. (50) réalisée en Suède, le risque de cancer du sein, par année d'utilisation, était légèrement plus élevé (1,08) avec les dérivés de la 19 nor-testostérone qu'avec ceux de la 19 nor-progestérone (0,95). L'avantage de l'étude française E3N-EPIC est d'avoir permis une comparaison, quoi que sur de faibles effectifs, entre les différents types de PGS et la progestérone. Cette étude a inclus 54 548 femmes ménopausées de l'Éducation nationale avec un suivi moyen de 6 ans. Comparé à celui des femmes non traitées, le risque de cancer du sein était significativement augmenté de 20 % (RR : 1,2 ; IC 95 % = 1,1-1,4) chez les femmes traitées. Ce risque était de 1,1 (IC 95 % = 0,8-1,6) chez celles n'ayant reçu que des estrogènes et de 1,3 (IC 95 % [1,1-1,5]) chez celles ayant reçu une association estro-progestative. De plus, aucune augmentation du risque de cancer du sein n'a été notée lorsque l'estradiol était associé à la progestérone naturelle (RR = 0,9 ; IC 95 % = 0,7-1,2), contrairement à ce qui a été observé lorsqu'il était associé aux PGS (RR = 1,4 ; IC 95 % = 1,2-1,7).

Par quel(s) effet(s) les PGS, lorsqu'ils sont associés aux estrogènes, augmenteraient, contrairement à la progestérone, le risque de cancer du sein ?

Rappelons que les mécanismes qui sous-tendent l'effet carcinogène des estrogènes restent pour l'instant non élucidés, mais deux théories sont le plus souvent avancées : celle de la stimulation de la prolifération cellulaire ou celle d'un effet génotoxique de certains métabolites estrogéniques, à l'origine de mutations induites.

Tous les progestatifs ont-ils le même effet sur la prolifération cellulaire induite par les estrogènes ? La controverse est ancienne et le débat non résolu, entre un effet stimulant (souvent observé *in vivo*) ou un effet freinateur (surtout documenté *in vitro*). Pour une large part, le caractère contradictoire des résultats peut être expliqué par la diversité des modèles, des molécules, des protocoles d'évaluation et l'influence de l'environnement paracrine. Cependant, pris dans leur ensemble, ces travaux dégagent la notion que certains PGS seraient plus susceptibles que la progestérone de stimuler certains des mécanismes cellulaires pouvant augmenter le risque de cancer du sein.

Les raisons de telles différences sont certainement multiples. Elles pourraient être liées aux propriétés intrinsèques de certains PGS, de type pro-inflammatoires ou androgéniques (baisse de la SHBG avec les PGS androgéniques par exemple). Elles pourraient également être secondaires à l'orientation du métabolisme des PGS, vers des

composés capables de stimuler ou d'inhiber la prolifération cellulaire. Elles pourraient également être liées à une action différente des PGS sur le métabolisme intra-tissulaire des estrogènes. Il a été ainsi très récemment montré (51) que le MPA stimulait l'activité de la  $17\beta$ -réductase de type I (et donc la production *in situ* d'estradiol à partir de l'estrone) contrairement au levonorgestrel (LNG) ou au NETA, qui augmentent à la fois les activités d'oxydation et de réduction de la  $17\beta$ -HSD. Par ailleurs, et contrairement au MPA, la progestérone n'augmente pas différents marqueurs épithéliaux de risque de cancer du sein (52). Enfin, certains travaux récents apportent des données très intéressantes, certes dans d'autres modèles cellulaires que les cellules mammaires, qui étayaient des différences d'action entre PGS et progestérone. Dans ces modèles, le MPA contrairement à la progestérone, s'oppose à l'effet protecteur de l'estradiol (53). Bien que décrits au niveau des cellules neuronales, ces résultats apportent un éclairage nouveau sur la relation entre la structure du progestatif et l'action cellulaire de l'estradiol.

Quel est le rôle des PGS et de la progestérone sur le métabolisme systémique et intra-tissulaire des estrogènes pouvant aboutir à des composés génotoxiques ? Cette question reste actuellement ouverte et sans réponse.

#### **Nature de l'estrogène :**

Les estrogènes conjugués équins ont-ils le même effet sur le sein que l'estradiol ? L'absence d'augmentation du risque de cancer du sein chez des femmes hystérectomisées recevant des ECE seuls, rapportée dans la WHI, ouvre un nouveau débat, d'autant que ce type de résultat n'a jamais été rapporté avec l'estradiol. Une analyse complémentaire récente (54) de cette étude montre en effet, qu'il n'existe aucune augmentation du risque de cancer du sein chez les femmes traitées par ECE seuls (RR = 0,80 ; IC 95 % = 0,62-1,04,  $p < 0,09$ ) après un suivi moyen de 7,1 ans. De plus, ce risque était significativement diminué (RR = 0,65 ; IC 95 % = 0,46-0,92) chez les femmes qui n'avaient jamais reçu de THM avant leur inclusion dans l'étude, même en cas d'antécédents de mastopathie bénigne ou d'antécédents familiaux au premier degré de cancer du sein. Bien que les résultats de ces sous-groupes doivent être considérés avec prudence, ils iraient dans le sens d'un effet protecteur ou tout au moins neutre des ECE vis-à-vis du risque de cancer du sein.

Ces résultats cliniques apparemment paradoxaux sont cependant étayés par des données biologiques récentes qui tendraient à mieux documenter les différences d'effet entre les ECE et l'estradiol sur le tissu mammaire. Ainsi, certains travaux récents, portant sur le métabolisme des ECE, ont mis en évidence que ces composés subissaient principalement une hydroxylation en 4, avec pour métabolite majeur le 4-OH-équilenine, qui apparaît plus susceptible de promouvoir la croissance tumorale que le 4-OH-estrone, tout au moins *in vitro*. Ces données sont fragmentaires et ne permettent pas néanmoins de conclure au caractère plus cancérigène d'un composé par rapport à un autre. De plus, si les ECE paraissent capables, du fait de leur structure chimique (noyau A et B de type aromatique) de générer plus de composés génotoxiques que l'estradiol (E2) (55, 56) il a été, par contre, montré, dans des cultures de cellules mammaires normales, que l'E2 aurait des effets plus marqués sur la prolifération cellulaire. Ainsi, dans une des rares études comparant les effets de l'E2 et des ECE sur une lignée humaine de cellules de cancer du sein (MCF-7), Mueck et coll. (57) montrent que l'E2 stimule la prolifération cellulaire de manière plus importante que l'équiline (Eq) ou la  $17\alpha$ -dihydro-équiline (Dheq), principaux composants des ECE. Le métabolisme estrogénique peut par ailleurs générer, en proportion

variable selon les individus ou la molécule administrée, des composés « protecteurs » à effet antiprolifératif comme les dérivés 2-hydroxylés (2-OH-estrone par exemple) ou des métabolites de type para-quinols, capables de neutraliser les radicaux superoxydes. La tendance à la diminution du risque de cancer du sein observé dans le bras ECE seuls de la WHI tire peut-être son origine de tels mécanismes. Cette notion d'une moindre nocivité des ECE que de l'estradiol sur le sein demande néanmoins à être confirmée.

### **Type de schéma thérapeutique**

L'administration concomitante et continue de PGS entraînerait-elle plus de risque sur le sein qu'une administration, cyclique et séquentielle ? Il est intéressant de remarquer que cette question importante n'a pas fait l'objet pour l'instant d'études cliniques spécifiques. Au plan biologique, cette hypothèse s'appuie sur de rares travaux mettant en évidence l'effet de la baisse des concentrations de la progestérone sur l'apoptose des cellules mammaires (58). Au plan clinique, l'analyse rétrospective de sous-groupes d'études cas-témoins plaiderait en faveur de cette hypothèse. On doit cependant remarquer que la définition de schéma « continu » ou « séquentiel » n'est pas strictement la même selon les études, rendant une telle comparaison difficile. En dehors de l'étude de Ross et coll. (59) dans laquelle le schéma continu apparaissait moins nocif que le schéma séquentiel, les études de Magnusson comme celles de Porch (60), de Weiss (61) et d'Olsson (62) rapportent au contraire un risque accru avec les traitements continus.

### **AU PLAN CÉRÉBRO-VASCULAIRE ET DES FONCTIONS CÉRÉBRALES**

***Il n'a pas été démontré d'effet protecteur du THM sur le risque d'AVC, sur le déclin cognitif et la démence quelque soit l'œstrogène utilisé.***

Cette notion, déjà suggérée par les études de prévention secondaire, telle HERS, ou primo-secondaire comme WHI, a été nettement confirmée par une récente méta-analyse, incluant 39 769 femmes ayant participé à 28 études, dont 12 de prévention secondaire. Chez les femmes ayant reçu ou recevant un THM, le risque d'AVC de type ischémique était augmenté de 29 % et le taux de mortalité ou de dépendance après AVC était accru de 56 %. Dans l'étude WHIMS (63, 64), étude ancillaire de la WHI sur les fonctions cognitives, le risque de démence était plus élevé chez les femmes recevant des ECE (HR = 1,7 ; IC 95 % = 0,74-4,23) ou ECE + MPA (HR = 2,19 ; IC 95 % = 1,25-3,84) que dans le groupe placebo. Pour le déclin cognitif, le HR était de 1,34 (IC 95 % = 0,95-1,29) dans le groupe ECE et de 1,25 (IC 95 % = 0,97-1,60) dans le groupe ECE + MPA.

L'étude WEST (65), randomisée, contre placebo, avait pour but, dans le cadre d'une prévention secondaire, d'évaluer l'effet de 1 mg de 17 $\beta$ -E2 sur le risque de survenue d'AVC ou de décès chez des femmes ménopausées ayant déjà présenté un AVC de type ischémique ou un AIT. Après un suivi moyen de 2,8 ans, le RR d'AVC était supérieur chez les femmes traitées par rapport à celles recevant le placebo (RR : 2,3 ; IC 95 % = 1,1-5,0).

***Cependant, des données de plus en plus nombreuses témoignent de l'effet neuroprotecteur de l'estradiol in vitro ou dans des modèles animaux.***

L'action de l'estradiol et de la progestérone au niveau cérébral fait l'objet d'une recherche intense depuis quelques années (66). L'intérêt s'est particulièrement porté sur l'hippocampe, structure particulièrement vulnérable et dont le vieillissement, qui

se traduit une diminution des capacités d'acquisition et de mémorisation, s'associe à une diminution de volume qui est encore plus nette chez les patients atteints d'Alzheimer. Les altérations fonctionnelles de cette structure observées avec le vieillissement sont multiples. Elles sont caractérisées par une diminution de la neurogénèse, des modifications de la neurotransmission surtout cholinergique, de l'activité électrique, des variations de l'expression des gènes, des facteurs de croissance, de certains facteurs de transcription et enfin de la distribution cellulaire des récepteurs aux stéroïdes. On note également des altérations vasculaires, une augmentation du stress oxydatif, de la perte neuronale, de la concentration de facteurs inflammatoires (67).

L'estradiol exerce, par différents mécanismes cellulaires (68) un effet neuroprotecteur et dans des modèles de rongeurs, est capable de prévenir les effets du vieillissement au niveau de l'hippocampe. Au niveau cellulaire, l'estradiol prévient l'apoptose et augmente la survie neuronale, stimule la synaptogénèse et régule la transmission cholinergique. Plusieurs travaux montrent également que l'estradiol réduit l'accumulation de la substance  $\beta$ -amyloïde dans des modèles animaux de maladie d'Alzheimer. La médiation de cet effet neuroprotecteur pourrait impliquer une augmentation de l'expression du gène *seladin-1* (**S**elective **A**lzheimer's **D**isease **I**ndicator-1) (69). Les données actuelles soulignent l'importance du récepteur  $\beta$  dans la médiation de ces effets (70). De plus, comme pour l'athérosclérose, l'âge de l'administration de l'estradiol apparaît d'une importance cruciale, puisque, tout au moins chez les rongeurs, les animaux jeunes ou adultes sont sensibles aux estrogènes, contrairement aux animaux âgés chez lesquels cette sensibilité est diminuée (68).

## CONCLUSION

Si le concept de traitement hormonal de la ménopause est désormais révolu, la question essentielle reste de savoir chez quelles femmes ménopausées et dans quelles conditions permettant d'obtenir le meilleur rapport bénéfice/risque, les estrogènes pourraient avoir un effet de prévention vis-à-vis des pathologies chroniques, telle l'ostéoporose, les maladies cardio-vasculaires et les démences. La réponse est claire pour l'ostéoporose où l'efficacité en prévention primaire du THS est amplement documentée. Pour l'athérosclérose et la pathologie trombo-embolique veineuse, les connaissances actuelles convergent pour souligner l'importance du moment et du mode d'administration du THS pour optimiser ses effets préventifs et réduire sinon annuler ses risques. Pour les accidents cérébro-vasculaires et les fonctions cognitives, les preuves cliniques manquent alors que les effets protecteurs de l'estradiol et ses mécanismes d'action sont de mieux en mieux documentés *in vivo* et *in vitro*. Il est clair que la démonstration d'un effet protecteur dans ce domaine ferait irrévocablement pencher la balance dans le sens des bénéfices.

**Centre de Ménopause  
Hôpital Paule de Viguier  
31059 Toulouse**

**Adresse pour la correspondance :** Professeur Claude Ribot, Centre de Ménopause, Hôpital Paule de Viguier 330, avenue de Grande-Bretagne, 31059 Toulouse.

**Tél. :** 03 88 11 60 52 - **Fax :** 03 88 11 62 63 - **E-mail :** ribot.c@chu-toulouse.fr

## UPDATE ON HORMONE THERAPY IN POSTMENOPAUSAL WOMEN

by **Claude RIBOT, Florence TRÉMOLLIÈRES and Jean-Michel POUILLÉS**  
(Toulouse, France)

Centre de Ménopause, Hôpital Paule de Viguier,  
330, avenue de Grande-Bretagne, 31059 Toulouse

### ABSTRACT

*Hormone therapy (HT) in postmenopausal women consists in giving an estrogen, combined with a progestin in non hysterectomized women. There are several treatment regimens, which differ from one country to another according to pharmacological and cultural factors. Results of recent clinical studies highlighted the need to know if some risks related to HT could be decreased or suppressed by a true hormone replacement therapy (HRT). Such a therapy consists in using the hormones secreted by women before menopause, namely 17 $\beta$ -estradiol and progesterone, given in a physiological way and at the right moment. Recent data confirm it is important to take into account the route of administration, the nature of the molecules prescribed and the start of treatment since menopause.*

**Key words :** postmenopausal hormone therapy, hormone replacement therapy, cardiovascular risk, breast cancer, osteoporosis.

### BIBLIOGRAPHIE

- Grady D., D. Herrington, V. Bittner et al. :** Cardio-vascular disease outcomes during 6. 8 years of hormone therapy. *JAMA* 2002, **288** : 49-57. – **2. Rossouw J. E., G. L. Anderson, R. L. Prentice et al. :** Writing Group for the Women's Health Initiative Investigators : Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women : principal result from the Women's Health Initiative randomized controlled trial. *JAMA* 2002, **288** : 321-333. – **3. Million Women Study Collaborators :** Breast cancer and hormone-replacement therapy in the Million Women Study. *Lancet* 2003, **362** : 419-27. – **4. Rapports d'orientation sur le THS** (mai 2004). <http://afssaps.sante.fr>. – **5. Gayet-Ageron A., N. Amamra, V. Ringa et al. :** Estimated number of postmenopausal women treated by hormone therapy in France. *Maturitas* 2005, **52** : 296-305. – **6. Cauley J. A., J. Robbins, Z. Chen et al. :** Effects of estrogen plus progestin on the risk of fracture and bone mineral density : the Women's Health Initiative randomized trial. *JAMA* 2003, **290** : 1729-1738. – **7. The Women's Health Initiative Steering Committee :** Effects or conjugated equine estrogen in postmenopausal women with hysterectomy : the Women's Health Initiative randomized controlled trial. *JAMA* 2004, **291** : 1701-1712. – **8. Kanis J. A., F. Borgstrom, C. De Laet et al. :** Assessment of fracture risk. *Osteoporosis Int* 2005, **16** : 581-589. – **9. Abrahamsen B., P. Vestergaard, B. Rud et al. :** Ten-year absolute risk of osteoporotic fractures according to BMD T-score at menopause : The Danish Osteoporosis Prevention Study. *J Bone Miner Res* 2006, **21** : 796-800. – **10. Siris E.S., P.D. Miller, E. Barrett-Connor et al. :** Identification and fracture outcomes of undiagnosed low bone mineral density in postmenopausal women. *JAMA* 2001, **286** : 2815-2822. – **11. van der klift M., C.D. de Laet, H.A. Pols :** Assessment of fracture risk : Who should be treated for osteoporosis? *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2005, **19** : 937-950. – **12. Somay-Rendu E., F. Munoz, P. Garnero et al. :** Identification of osteopenic women at high risk of fracture : the OFELY study. *J Bone Miner Res* 2005, **10** : 1813-1819. – **13. Akhter M. P., J.M. Lappe, K.M. Davies et al. :** Transmenopausal changes in the trabecular bone structure. *Bone* 2007, **41** : 111-116. – **14. Peverill R.E. :** Hormone therapy and venous thromboembolism. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2003, **17** : 149-164. – **15. Ettinger B., D.M. Black, B.H. Mitlak et al. for the Multiple Outcomes of Raloxifene Evaluation (MORE) Investigators :** Reduction of vertebral risk in postmenopausal women with osteoporosis treated with raloxifene : results from a 3-year randomized trial. *JAMA* 1999, **282** : 637-645. – **16. Conard J., M. Samama, A. Basdevant et al. :** Differential AT-III response to oral and parenteral administration of 17 beta-estradiol. *Thromb Haemost* 1983, **49** : 252-254. – **17. Scarabin P.Y., G. Plu-Bureau, L. Bara et al. :** Haemostatic variables and menopausal status : influence of hormone replacement therapy. *Thromb Haemost* 1993, **70** : 584-587. – **18. Canonico M., G. Plu-Bureau, G.D.O. Lowe et al. :** Hormone replacement therapy and risk of venous thrombo-embolism in post menopausal women : systematic review and meta-analysis. *BMJ* 2008, **336** : 1227-1231. – **19. Vickers**

**M.R., A.H. MacLennan, B. Lawton et al.** : Main morbidities recorded in the women's international study of long duration oestrogen after menopause (WISDOM) : a randomised controlled trial of hormone replacement therapy in postmenopausal women. *BMJ* 2007, **335** : 239. – **20. Scarabin P.Y., E Oger, G. Plu-Bureau** : Estrogen and ThromboEmbolic Risk Study Group : Differential associations of oral and transdermal oestrogen replacement therapy with venous thromboembolism risk. *Lancet* 2003, **362** : 428-432. – **21. Canonico M., E. Oger, G. Plu-Bureau et al.** : Estrogen and Thromboembolic Risk (ESTHER) Study Group : Hormone therapy and venous thrombo-embolism among post menopausal women : impact of the route of estrogen administration and progesterone : The Esther Study. *Circulation* 2007, **115** : 840-845. – **22. Rosing J., S. Middeldorp, J. Curvers et al.** : Low doses oral contraceptives and acquired resistance to activated protein C : a randomised cross-over study. *Lancet* 1999, **354** : 2036-2040. – **23. Hoitbraaten C., M.C. Mowinckel, H. de Ronde et al.** : Hormone replacement therapy and acquired resistance to activated protein C : results of a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Br J Haematol* 2001, **115** : 415-420. – **24. Post M.S., M.J. van der Mooren, C.D. Stehouwer et al.** : Effects of transdermal and oral estrogen replacement therapy on C-reactive protein levels in postmenopausal women : a randomised, placebo-controlled trial. *Thromb Haemost* 2002, **88** : 605-610. – **25. Post M.S., M. Christella, L.G. Thomassen et al.** : Effect of oral and transdermal estrogen replacement therapy on hemostatic variables associated with venous thrombosis : a randomized, placebo-controlled study in postmenopausal women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003, **23** : 1116-1121. – **26. Oger E., M. Alhenc-Gelas, K. Lacut et al.** : Differential effects of oral and transdermal estrogen/progesterone regimens on sensitivity of activated protein C among postmenopausal women : a randomized trial. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003, **23** : 1671-1676. – **27. Grodstein F., J.E. Manson, M.J. Stampfer** : Hormone therapy and coronary heart disease : The role of time since menopause and age at hormone initiation. *J Womens Health* 2006, **15** : 35-44. – **28. Rossouw J.E., R.L. Prentice, J.E. Manson et al.** : Postmenopausal hormone therapy and risk of cardiovascular disease by age and years since menopause. *JAMA* 2007, **297** : 1465-1477. – **29. Smolders R.G., M.J. van der Moren, T. Teerlink et al.** : A randomized placebo-controlled study of the effect of transdermal vs oral estradiol with or without gestodene on homocysteine levels. *Fertil Steril* 2003, **79** : 261-267. – **30. Vehkavaara S., A. Silveira, T. Hakala-Ala-Pietila et al.** : Effects of oral and transdermal estrogen replacement therapy on markers of coagulation, fibrinolysis, inflammation and serum lipids and lipoproteins in postmenopausal women. *Thromb Haemost* 2001, **85** : 619-625. – **31. Wakatsuki A, Y. Okatani, N. Ikenoue et al.** : Different effects of oral conjugated equine estrogen and transdermal estrogen replacement therapy on size and oxydative susceptibility of low-density lipoprotein particles in postmenopausal women. *Circulation* 2002, **106** : 1771-1776. – **32. Vihma V., S. Vehkavaara, H. Yki-Jarvinen et al.** : Differential effects of oral and transdermal estradiol treatment on circulating estradiol fatty acid ester concentrations in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 2003, **88** : 588-593. – **33. Post M.S., J.R. Leurs, M.J. van der Mooren et al.** : Different effects of low-dose transdermal and oral estrogen replacement therapy on pro-carboxy-peptidase U, an inhibitor of fibrinolysis in healthy postmenopausal women : a randomised, placebo-controlled study. *Thromb Haemost* 2005, **93** : 620-622. – **34. Lewandowski K.C., J. Komorowski, D.P. Mikhailidis et al.** : Effects of hormone replacement therapy type and route of administration on plasma matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 2006, **91** : 3123-3130. – **35. Helmelaar M., P. Kenemans, C.G. Schalwijk et al.** : No increase in C-reactive protein during intra nasal compared to oral hormone therapy in healthy postmenopausal women. *Hum Reprod* 2006, **21** : 1635-1642. – **36. Vehkavaara S., T. Hakala-Ala-Pietila, A. Virkamäki et al.** : Differential effects of oral and transdermal estrogen replacement therapy on endothelial function in postmenopausal women. *Circulation* 2000, **102** : 2687-2693. – **37. Sumino H., S. Ichikawa, S. Kasama et al.** : Different effects of oral conjugated estrogen and transdermal estradiol on arterial stiffness and vascular inflammatory markers in postmenopausal women. *Atherosclerosis* 2006, **189** : 436-442. – **38. Arnal J.F., P. Gourdy, R. Elhage et al.** : Estrogen and atherosclerosis. *Eur J Endocrinol* 2004, **150** : 113-117. – **39. Karim R., H.N. Nodis, F.Z. Stanczyk et al.** : Relationship between serum levels of sex hormones and progression of subclinical atherosclerosis in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 2008, **93** : 131-138. – **40. Arnal J.F., P.Y. Scarabin, F. Trémollières et al.** : Estrogens in vascular biology and disease : where do we stand today ? *Curr Opin Lipidol* 2007, **18** : 554-560. – **41. Clarkson T.B.** : Can women be identified that will derive considerable cardiovascular benefits from post menopausal estrogen therapy ? *J Clin Endocrinol Metab* 2008, **93** : 37-39. – **42. Radvin P.M., K.A. Cronin, N. Howlader et al.** : The decrease in breast cancer incidence in 2003 in the United States. *N Engl J Med* 2007, **356** : 1670-1674. – **43. Allemand H., B. Seradour, A. Weill, P. Ricordeau** : Baisse de l'incidence des cancers du sein en 2005 et 2006 en France : un phénomène paradoxal. *Bull Cancer* 2008, **95** : 11-15. – **44. Glass A.G., J.V. Lacey, J.D. Carreon et al.** : Breast cancer incidence, 1980-2006 : combined roles of menopausal hormone therapy, screening mammography, and estrogen receptor status. *J Natl Cancer Ins* 2007, **99** : 1152-1161. – **45. Jemal A, E. Ward, M J. Thun** : Recent trends in breast cancer incidence rates by age and tumor characteristics among US women. *Breast Cancer Res* 2007, **9** : R28. – **46. Cummings S.R., T. Duong, E. Kenyon et al.** : Serum estradiol level and risk of breast cancer during treatment with raloxifene. *JAMA* 2002, **287** : 216-220. – **47. Bergkvist L., H.O. Adami, I. Persson et al.** : The risk of breast cancer after estrogen and estrogen-progestin replacement. *N Engl J Med* 1989, **321** : 293-297. – **48. Fournier A., F. Berrino, E. Riboli et al.** : Breast cancer risk in relation to different types of hormone replacement therapy in the E3N-EPIC cohort. *Int J Cancer* 2005, **114** : 448-454. – **49. Santen R.J.** : Risk of breast cancer with progestins : critical assessment of current data. *Steroids* 2003, **68** : 953-964. – **50. Magnusson C., J.A. Baron, N. Correia et al.** : Breast-cancer risk following long-term oestrogen and oestrogen-progestin-replacement therapy. *Int J Cancer* 1999, **81** : 339-344. – **51. Xu B.,**

**J. Kitawaki, H. Koshiba et al.** : Differential effects of progestogens, by type and regimen, on estrogen-metabolizing enzymes in human breast cancer cells. *Maturitas* 2007, **56** : 142-152. – **52. Wood C.E., T.C. Register, C.J. Lees et al.** : Effects of estradiol with micronized progesterone or medroxyprogesterone acetate on risk markers for breast cancer in postmenopausal monkeys. *Breast Cancer Res Treat* 2007, **101** : 125-134. – **53. Nilsen J., R.D. Brinton** : Divergent impact of progesterone and medroxyprogesterone acetate on nuclear mitogen activated protein kinase signaling. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003, **100** : 10506-10511. – **54. Stefanick M.L., G.L. Anderson, K.L. Margolis et al.** : Effects of conjugated equine estrogens on breast cancer et mammography screening in postmenopausal women with hysterectomy. *JAMA* 2006, **295** : 1647-1657. – **55. Zhang F., Y. Chen, E. Pisha et al.** : The major metabolite of equilin, 4-hydroxyequilin autoxidizes to an o-quinone which isomerizes to the potent cytotoxin 4-hydroxyequilenin-o-quinone. *Chem Res Toxicol* 1999, **12** : 204-213. – **56. Cuendet M., X. Liu, E. Pisha et al.** : Equine estrogen metabolite 4-hydroxyequilenin induces anchorage-independent growth of human mammary epithelial MCF-10A : differential gene expression. *Mutat Res* 2004, **55** : 109-121. – **57. Mueck A.O., H. Seeger, D. Wallwiener** : Comparison of the proliferative effects of estradiol and conjugated equine estrogens on human breast cancer cells and impact of continuous combined progestogen addition. *Climacteric* 2003, **6** : 221-227. – **58. Foidart J.M., C. Colin, X. Denoo et al.** : Estradiol and progesterone regulate the proliferation of human breast epithelial cells. *Fertil Steril* 1998, **69** : 963-969. – **59. Ross R.K., A. Paganini-Hill, P.C. Wan et al.** : Effect of hormone replacement therapy on breast cancer risk : estrogen versus estrogen plus progestin. *J Natl Cancer Inst* 2000, **92** : 328-332. – **60. Porch J.V., I.M. Lee, N.R. Cook et al.** : Estrogen-progestin replacement therapy and breast cancer risk : the Women's Health Study (United States). *Cancer Causes Control* 2002, **13** : 847-854. – **61. Weiss L.K., R.T. Burkman, K.L. Cushing-Haugen et al.** : Hormone replacement therapy regimens and breast cancer risk. *Obstet Gynecol* 2002, **100** : 1148-1158. – **62. Olsson H.L., C. Ingvar, A. Bladström** : Hormone replacement therapy containing progestins and given continuously increases breast carcinoma risk in Sweden. *Cancer* 2003, **97** : 1387-1392. – **63. Shumaker S.A., C. Legault, S.R. Rapp et al.** : Estrogen plus progestin and the incidence of dementia and mild cognitive impairment in postmenopausal women, the Women's Health Initiative Memory Study. *JAMA* 2003, **289** : 2651-2662. – **64. Rapp S.R., M.A. Espeland, S.A. Shumaker et al.** : Effect of Estrogen plus progestin on global cognitive function in postmenopausal women : the Women's Health Initiative Memory Study. *JAMA* 2003, **289** : 2663-2672. – **65. Viscoli C.M., L.M. Brass, W.N. Kernan et al.** : A clinical trial of estrogen replacement therapy after ischaemic stroke. *N Engl J Med* 2001, **345** : 1243-1249. – **66. Beaulieu E.E., P. Robel, M. Schumacher** : Neurosteroids : beginning of the story. *Int Rev Neurobiol* 2005, **46** : 1-32. – **67. Miller D.B., J.P. O'Callaghan** : Aging, stress and the hippocampus. *Ageing Res* 2005, **4** : 123-140. – **68. Sherwin B.B., J.F. Henry** : Brain aging modulates the neuroprotective effects of estradiol on selective aspects of cognition in women : a critical review. *Front Neuroendocrinol* 2008, **29** : 88-113. – **69. Luciani P., C. Deledda, F. Rosati et al.** : Seladin-1 is a fundamental mediator of the neuroprotective effects of estrogen in human neuroblast long-term cell culture. *Endocrinol* 2008, published on line : 10.1210/en.2007-1795. – **70. Liu F., M. Day, L.C. Muniz et al.** : Activation of estrogen-receptor beta regulates hippocampal synaptic plasticity and improves memory. *Nat Neurosci* 2008, **11** : 334-343.