

LE TRAITEMENT HORMONAL DE LA MÉNOPAUSE EST-IL TOUJOURS D'ACTUALITÉ ? : LE POINT DE VUE DU BIOLOGISTE CLINICIEN

par **Thierry MAUDELONDE** (Montpellier)

- Après avoir été encensé et considéré comme un moyen de stopper les méfaits de la vieillesse, le traitement hormonal de la ménopause a été mis en cause devant une recrudescence des cancers et la mise en évidence d'un risque cardiovasculaire non escompté chez les femmes sous hormonothérapie, d'après les premiers résultats des études prospectives. La ré-analyse de ces résultats, l'acquisition des connaissances dans le mécanisme d'action des hormones et les mécanismes du vieillissement et des maladies chroniques nous amènent à moduler les risques et les bénéfices du traitement hormonal de la ménopause et à repenser nos indications thérapeutiques selon l'histoire personnelle de chaque femme.

Mots-clé : *estroprogestatif, hormone naturelle, vieillissement, qualité de vie, spécificité tissulaire.*

INTRODUCTION

La problématique du traitement hormonal de la ménopause est représentative de l'évolution du concept de traitement de longue durée destiné à améliorer la qualité de vie. La ménopause est une conséquence du processus normal de vieillissement chez les femmes. Ce fait implique que les altérations biochimiques et physiologiques qui proviennent de la carence estrogénique sont souvent difficiles à dissocier de celles provenant du vieillissement. Les altérations organiques mises en évidence lors de la ménopause sont-elles irréversibles, liées à une accélération du vieillissement, ou sont-elles uniquement liées à la carence hormonale et réversibles sous traitement hormonal ? Dans les années 1980 les données épidémiologiques montraient que le risque cardiovasculaire des femmes progressait très rapidement à la ménopause, de même que l'ostéoporose. La relation avec la carence estrogénique s'imposait et le traitement hormonal substitutif (THS) efficace, d'après les études observationnelles, induisait cependant un risque accru de cancer du sein et de thrombophlébite. Le concept de modulateurs sélectifs des récepteurs des estrogènes (tamoxifène, raloxifène...) est né de la recherche de molécules de synthèse à effet estrogénique ciblé sur certains tissus où ils se révèlent bénéfiques. Le développement des phytoestrogènes dans le traitement des signes climatériques provient de cette problématique. La publication de grandes études prospectives dans les années 2000 (WHI, MWS...) (1, 2) montrant, de façon inattendue, un risque cardiovasculaire significatif s'ajoutant au risque de plusieurs cancers, a entraîné un coup d'arrêt brutal des prescriptions. On ne parlait plus de traitement substitutif mais de traitement hormonal de la ménopause (THM). Des recommandations ont été faites et la ré-analyse des études prospectives, de

même que d'autres études ont amené à ré-évaluer les effets bénéfiques et délétères des estrogènes et des progestatifs. Les progrès récents faits dans la connaissance de la biologie cellulaire du vieillissement et des mécanismes d'action des hormones, de même que la ré-analyse des études prospectives, éclairent d'un jour nouveau la problématique du THM et nous permettent de mieux cerner l'intérêt potentiel de l'utilisation des hormones dans un organisme vieillissant, dont les cellules ont des caractéristiques qui se modifient. Le problème de fond se pose actuellement de la façon suivante : la carence estrogénique participe-t-elle à l'accélération d'un processus irréversible de vieillissement dans certains tissus et l'adjonction d'hormone permet-elle de l'enrayer voire de le stopper avec le moins d'effets délétères possibles sur d'autres tissus ou bien les effets du vieillissement sur les cellules modifient-ils leurs réponses aux stimuli environnementaux.

I- Qu'est-ce le vieillissement?

Aspects cliniques

De nombreux changements physiques ont lieu dans notre corps lorsque nous vieillissons, tels que la perte de cheveux, des modifications endocriniennes, des déficits moteurs et des modifications sensorielles comme une réduction de l'acuité visuelle et une atteinte de l'audition. Le déclin des fonctions cognitives et de la mémoire est sans doute un des symptômes de vieillissement qui inquiète le plus les humains.

Aspects biologiques

Les théories du vieillissement associent traditionnellement une accumulation lente de la perte de fonction et de plasticité des cellules et des organes. Par conséquent, les facteurs qui contrôlent la prolifération cellulaire, la différenciation et la mort cellulaire sont considérés comme des régulateurs importants du processus de vieillissement (5). Parmi ces facteurs, pratiquement tous liés à l'expression du génome du noyau ou des mitochondries, on citera de façon non exhaustive :

- Le *télomère*, une structure située à la fin du chromosome, participe au maintien de l'intégrité du génome. Il serait impliqué dans le vieillissement. A chaque division cellulaire, il perd un peu de sa structure et lorsque 50 % de sa taille a disparu, la cellule arrête de proliférer et la sénescence se déclenche. Elle s'accompagne de modifications des fonctions cellulaires ;

- La *méthylation de l'ADN et les modifications post traductionnelles des histones* constituent l'épigénome et participent largement à la régulation de l'expression des gènes. La méthylation des îlots CpG dégénère avec le temps (6). L'accumulation d'altérations de la méthylation de l'ADN et du statut de l'acétylation des histones a été retrouvée par l'étude répétée du génome de jumeaux monozygotes en fonction de l'âge durant toute la vie (7). Des auteurs ont également identifié une altération de la méthylation de l'ADN induite par l'âge dans différents types de tissus (8).

- Les *mitochondries* sont impliquées dans le vieillissement. Les radicaux oxygénés (ROS) dégradent progressivement l'ADN mitochondrial au fil des années, entraînant une altération progressive des fonctions de l'organelle. Une crise fonctionnelle mitochondriale finit par se produire et déclenche la sénescence (9). Des gènes qui influent sur la longévité vont être impliqués. En particulier, trois des sept sirtuines, famille de protéines désacétylases, sont localisées dans les mitochondries. La Sirt3, mitochondriale, régirait le vieillissement.

sement et la carcinogénèse en modulant le métabolisme des ROS. Sirt3 est identifié comme un suppresseur de tumeur exprimé dans la mitochondrie.

- Les lipides et leurs dérivés peuvent agir dans diverses voies de signalisation pour influencer sur le vieillissement, y compris via les récepteurs nucléaires des hormones (RN) (10). Ce sont des facteurs de transcription hautement conservés dans les métazoaires qui jouent un rôle important dans la régulation de la physiologie et du développement. La grande majorité de ces RN semble provenir d'un ancêtre commun lié au récepteur nucléaire 4 des hépatocytes (HNF4) (11), qui a un rôle important dans le développement et les fonctions du foie et du pancréas chez les mammifères (12). Chez le ver *Caenorhabditis elegans*, DAF-12, un récepteur nucléaire, lie un ligand stéroïdien (13) et régule le développement et le vieillissement (14, 15).

Prédispositions acquises lors de la vie foetale

Les conditions de la vie foetale, notamment nutritionnelles, pourraient intervenir dans la survenue de l'obésité, de l'hypertension, du diabète de type II, des maladies cardiovasculaires (3) voire des maladies neurodégénératives (4) suggérant l'acquisition d'anomalies génétiques durant la vie foetale, induite par l'environnement.

Relation vieillissement et cancer

L'âge est le premier facteur de risque de cancer. Les altérations géniques que nous avons décrites pour le vieillissement sont aussi retrouvées dans la cancérogénèse. Lorsque les altérations deviennent importantes, la cellule oriente son devenir vers la sénescence, la cancérogénèse ou l'autodestruction selon l'efficacité de ses mécanismes de contrôle de l'intégrité du génome, qui implique notamment la P53.

Le vieillissement à l'échelon cellulaire serait réversible

Plusieurs équipes ont obtenu des cellules souches pluripotentes par reprogrammation nucléaire de cellules humaines différenciées provenant d'individus adultes parfois très âgés (centenaires) en transduisant un petit nombre de gènes qui s'expriment normalement dans les cellules souches (16-18). Les cellules, au cours de cette reprogrammation, ré-expriment des gènes embryonnaires, dont la télomérase qui permet de maintenir la taille du télomère voire de la rallonger. Les fonctions mitochondriales redeviennent identiques à celles de cellules embryonnaires. On peut donc dire que le vieillissement, à l'échelon cellulaire, n'est pas irréversible.

Les estrogènes interviennent-ils dans le vieillissement ?

Les estrogènes sont des hormones pléiotropiques qui interviennent dans la croissance et la différenciation de la plupart des tissus de l'organisme. Il paraît donc logique de penser que les estrogènes peuvent ralentir le vieillissement notamment au niveau des organes où la carence estrogénique ménopausique semble accélérer les complications liées au vieillissement. A titre d'exemple, il a été récemment montré que les estrogènes réprimaient l'expression de YPEL3 (Yippee-like-3), un gène de sénescence, dans les cancer du sein RE+ et que le tamoxifène dé-réprimait l'expression de ce gène (19). Des essais cliniques récents confirment l'importance des estrogènes dans l'homéostasie de nombreux tissus (20).

II- Vieillesse, estrogènes et spécificité tissulaire-quelques exemples

Os

Physiologiquement la densité minérale osseuse diminue progressivement à partir de la vingtaine. La chute de la production estrogénique, lors de la ménopause, est étroitement corrélée à un accroissement de la diminution de la densité minérale osseuse aussi bien au niveau de l'os trabéculaire que de l'os cortical (21). Les estrogènes stabilisent la perte osseuse en bloquant la résorption osseuse. Ils agissent sur les ostéoclastes et les ostéoblastes ainsi que sur le système immunitaire et les cellules stromales. La chute des estrogènes circulants entraîne une augmentation des cytokines IL-1, IL-6, IL-7 et du TNF α produits par les lymphocytes T, les ostéoblastes et les cellules stromales. Ils stimulent la perte osseuse et augmentent les ostéoclastes (22). Chez le rongeur on a montré par d'élégantes études d'inactivation des RE α et/ou du RE β que l'action de l'estradiol (E2) sur le remodelage osseux était dépendante du RE α (23). En particulier l'inactivation du RE α dans les ostéoclastes entraîne une perte importante d'os trabéculaire (24). L'E2 inhibe les ostéoclastes en augmentant l'ostéoprotégérine (OPG) produite par les ostéoblastes et le ligand du récepteur activateur de NK- κ B (RANK). Il diminue ainsi la synthèse de cathepsine K et de la phosphatase acide tartrate résistante (TRAP) (25) par les ostéoclastes. Au niveau des ostéoblastes, l'E2 inhibe l'apoptose en stimulant la synthèse de Bcl-2 (26) et la voie src (27) et il augmente la différenciation ostéoblastique en stimulant la synthèse de la protéine morphogénique 2 de l'os (BMP-2) (28.).

Système cardiovasculaire

Le risque de maladie cardiovasculaire est similaire pour les femmes et les hommes âgés, mais plus faible chez les femmes en préménopause. Cette différence liée à l'âge et au sexe laisse à penser que les estrogènes sont un facteur de protection. Le vieillissement est associé à des changements structurels et fonctionnels dans le système vasculaire tels que le dysfonctionnement endothélial, la rigidité artérielle, avec une diminution de l'angiogénèse et une augmentation de la prévalence de l'athérosclérose (29). Les données expérimentales ont attribué la plupart des effets protecteurs des estrogènes à leur action modulatrice de la production de NO par l'endothélium vasculaire (30). Ils modulent aussi la sécrétion de prostacycline et de thromboxane A(2). La voie du thromboxane A(2) est essentielle pour réguler le tonus vasculaire chez la femme. Malgré les preuves expérimentales, certains essais cliniques n'ont trouvé aucun bénéfice cardiovasculaire de l'estrogénothérapie substitutive chez les femmes ménopausées âgées. L'hypothèse d'un « timing » qui propose que les actions vasculaires induites par les estrogènes se produisent seulement avant que les effets néfastes du vieillissement soient établis dans le système vasculaire, est une explication possible.

Les effets paraissent différents au niveau de la pression artérielle. La tendance des estroprogestatifs à provoquer une hypertension a été retrouvée dans la plupart des grandes études. La plus récente, la « 45 and Up Study », ayant pour but d'évaluer le retentissement à grande échelle du vieillissement chez des sujets en bonne santé (31) a inclus un total de 43 405 femmes ménopausées sans hypertension artérielle détectée. L'utilisation du THM était associée avec un risque plus élevé d'avoir une élévation de la pression artérielle, ce risque diminuant avec l'âge : 56 ans (odds ratio ajusté de 1,59 ; intervalle de confiance à 99 % : 1,15 - 2,20) ; 56-61 ans (1,58 ; 1,31 - 1,90) ; 62-70 ans (1,26 ; 1,10 - 1,44).

Tissu adipeux

Le vieillissement est souvent associé à un gain de poids causé par des changements métaboliques qui favorisent une augmentation de la graisse corporelle. Physiologiquement, les femmes ont plus de graisse sous cutanée que les hommes. Elle se développe lors de la puberté et serait induite par les estrogènes (32). Par contre, les estrogènes inhibent l'augmentation de la graisse abdominale. Les souris castrées deviennent obèses. Un traitement estrogénique fait disparaître cette obésité (33). Les rongeurs ayant une inactivation du RE α font plus de graisse que les animaux de type sauvage ou que ceux qui ont une inactivation du RE β (34).

A la ménopause, lorsque les estrogènes diminuent, la graisse abdominale augmente ainsi que le poids et le risque de syndrome métabolique (35). Le mécanisme du rôle des estrogènes dans la surcharge pondérale reste mal connu. Cependant ils agissent sur la synthèse de la leptine (36) et celles de certaines adipokines comme l'adiponectine (37). Les estrogènes régulent aussi l'expression de la lipoprotéine lipase et de la lipase hormonosensible dans l'adipocyte abdominal (38) et la synthèse des apolipoprotéines pour les HDLs et les VLDLs ainsi que des lipases dans l'hépatocyte (39). Le profil lipidique à la ménopause est donc modifié et favorise les maladies cardiovasculaires.

Avec l'âge, l'action des estrogènes dans le tissu adipeux (AT) se modifie. Elle a été évaluée chez la souris ayant une inactivation du gène de l'aromatase (ArKO) (40). Ces souris, à l'âge de trois ou douze mois respectivement ont été traitées par voie sous-cutanée avec l'excipient, l'E2 (10 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$) ou la génistéine (15 $\text{mg}/\text{kg}/\text{j}$). La réponse aux estrogènes était dépendante de l'âge tant sur le plan physiologique que moléculaire au niveau de la graisse péri-rénale et gonadique. Le vieillissement a donc un impact sur l'efficacité des activités biologiques régulées par les estrogènes dans le tissu adipeux de la souris d'ArKO.

Le syndrome métabolique et la ménopause

La prévalence du syndrome métabolique est augmentée chez la femme ménopausée (41). Dans la graisse de la femme préménopausée, la sensibilité à l'insuline et la lipidogénèse sont supérieures à celles retrouvées chez l'homme (42). La sensibilité à l'insuline diminue lors de la ménopause. Les récepteurs PPAR γ et le transporteur des acides gras sont augmentés alors que les marqueurs du turn-over des lipides sont diminués (l'acétyl CoA carboxylase α , l'acyl CoA déshydrogénase, la lipase) (43). La production d'estrogènes par le tissu adipeux est aussi diminuée (44). Ce rôle des estrogènes est mis en évidence chez les souris sans estrogène (inactivation du gène de l'aromatase ou du RE α) qui présentent une augmentation de la graisse viscérale, une résistance à l'insuline et une intolérance au glucose (45).

Sein

Lors du vieillissement, il y a une involution de la glande mammaire avec régression des structures lobulaires sauf des lobules de type 1. La quasi-totalité des cancers du sein de la femme se produit au niveau des jonctions ductulo-lobulaires (46) et plus particulièrement au niveau des lobules de type 2. A partir d'un certain âge, il est possible que la régression de ces structures lobulaires devienne telle que ces cancers ne peuvent se développer. Certaines publications font état d'une action protectrice du cancer du sein par les estrogènes seuls et émettent l'idée que la privation de longue durée en estrogène entraîne une hypersensibilité aux estrogènes qui vont, lors de leur ré-introduction, induire une apoptose

des cellules mammaires. Ce mécanisme d'action des estrogènes a été retrouvé dans les études *in vitro*, en culture de cellules mammaires cancéreuses, mais, *in vivo* chez la femme, il existe une production locale d'estrogènes par le tissu adipeux de la glande mammaire qui va à l'encontre de cette théorie.

Le rôle des progestatifs est ambigu et n'est pas encore élucidé. Les études fondamentales sont en faveur d'un effet protecteur alors que les études prospectives sur le traitement substitutif de la ménopause suggèrent un rôle délétère des progestatifs sur la cancérogénèse mammaire (RR~1,3 vs 1 pour estrogène seul) (WHI, HERS, MWS). L'utilisation des progestatifs pourrait favoriser l'émergence du cancer en créant la structure ductulo-lobulaire. Une autre hypothèse est l'apparition d'une modification des réponses aux progestatifs lors du vieillissement cellulaire, ceux-ci devenant des agents prolifératifs (47).

Cerveau

Les manifestations principales de l'âge et des désordres associés tels que la maladie de Parkinson et la maladie d'Alzheimer sont la perte des neurotransmetteurs et de leur récepteur (48). La dégradation de la voie dopaminergique nigrostriée entraîne l'affaiblissement du contrôle sensorimoteur qui est une des caractéristiques de la maladie de Parkinson. Des symptômes de maladie de Parkinson peuvent apparaître lors de la transition ménopausique et les données cliniques sont en faveur de leur régression sous THM (49). Les récepteurs dopaminergiques D1 et D2 diminuent avec l'âge dans le striatum et leur concentration augmente sous l'effet d'un traitement estrogénique après une ovariectomie chez le rongeur (50). Une possible explication est la modification importante, liée à l'âge, de l'expression génique des neurones du striatum (51).

La déplétion hormonale ovarienne induite par ovariectomie (OVX) des rats femelles adultes conduit à des altérations d'expression de gènes ciblant la bioénergétique, le métabolisme et l'inflammation dans l'hippocampe, qui sont en grande partie inversées par l'administration concomitante d'E2 et de progestérone prescrite de façon cyclique mais pas avec la progestérone prescrite de façon continue (52). La confirmation de ces résultats dans un modèle de ménopause naturelle, impliquerait que le schéma de THM combiné continu peut avoir des conséquences néfastes, alors qu'un schéma combiné cyclique pourrait être une stratégie efficace pour maintenir les fonctions neurologiques lors du vieillissement de la femme ménopausée.

La réactivité vasculaire a été déterminée par échographie transcrânienne chez une centaine de volontaires en bonne santé, non-fumeurs (âge 20 à 70 ans, 10 hommes et 10 femmes par décennie) (53). Chez les hommes, aucun changement de la réactivité vasculaire avec l'âge n'a pu être observé alors qu'elle diminue significativement de la 4^{ème} à la 5^{ème} décennie chez les femmes. Le THM chez les femmes ménopausées améliore la réactivité vasculaire.

Muscle squelettique

La réduction de la masse musculaire squelettique et l'augmentation de la graisse corporelle sont les changements les plus significatifs associés au vieillissement. La perte musculaire liée à l'âge, appelée sarcopénie, est cliniquement définie comme une masse musculaire d'au moins deux écarts-types en dessous de la masse musculaire moyenne d'un adulte de 35 ans (54). Le taux de perte de muscle squelettique peut être plus de 1 % par an après 30 ans et se poursuit jusqu'à la fin de la vie (55). La sarcopénie affecte environ 30% de la population âgée de 60 ans et plus. Bien que l'étiologie soit multiforme, l'explication

métabolique la plus évidente du déclin de la masse musculaire est un déséquilibre entre les taux des mucopolysaccharides et la protéolyse. La réduction de la masse musculaire avec l'âge est responsable d'une diminution de la force, de la capacité aérobie et de la fonction musculaire ; elle réduit ainsi la qualité de vie.

Le déclin rapide de la production d'estrogènes coïncide avec une détérioration de la performance musculaire. Les stéroïdes sexuels circulants ont été associés avec une meilleure qualité de muscle et plusieurs études ont montré que les taux circulants d'estrogènes bas sont associés à une baisse de la masse et de la force musculaires (56) tandis que les concentrations musculaires d'estrogènes, dues à la stéroïdogénèse locale reflètent la quantité de graisse infiltrée dans le tissu musculaire. Ils ont donc des rôles distincts dans la régulation des caractéristiques neuromusculaires au cours du vieillissement. Lorsqu'elle survient en post ménopause, la fonte musculaire peut être prévenue par le THM et un entraînement physique (57, 58). La cohorte finlandaise « Twin » constituée de paires de jumeaux femmes monozygotes âgées de 54 à 62 ans a permis d'étudier les effets de l'hormonothérapie substitutive de la ménopause sur le transcriptome des cellules du muscle squelettique (11 paires sous THM ; durée du traitement : $7,3 \pm 3,7$ ans) (59, 60). Il a été ainsi montré que l'amélioration des performances musculaires des utilisatrices du THM au long cours semblait liée à la régulation de la matrice extracellulaire intramusculaire et à une modification métabolique caractérisée par le passage de l'utilisation du glucose à l'utilisation des acides gras. Les RE α et β sont exprimés dans le muscle squelettique (61-63). Les souris ayant une inactivation des RE α ont une hyperplasie adipocytaire, une intolérance au glucose et une résistance à l'insuline (64). L'expression du transporteur du glucose GLUT4, régulé par l'insuline, est effondrée en l'absence de RE α (65). Ce dernier paraît aussi stimuler la différenciation des cellules musculaires (augmentation de Myo D1 et diminution d'AP1) (66). Le rôle protecteur des estrogènes pour le muscle squelettique est aussi associé à une activité anti-apoptotique qui nécessite principalement le RE β (67). Celui-ci serait surtout actif au niveau des mitochondries (68). L'effet des SERM sur le muscle commence à peine à être étudié (69).

III- Les données cliniques sur le THM

Symptômes climatiques

Même si ces symptômes n'affectent que la qualité de vie, ils sont ressentis par la majorité des femmes et elles recherchent à en être soulagées pendant la transition ménopausique. La majorité des études rétrospectives et prospectives confirment que l'hormonothérapie améliore la qualité de vie chez les femmes symptomatiques en diminuant le nombre de bouffées de chaleur, les symptômes vasomoteurs et en améliorant le sommeil. Une étude prospective récente, comparant de façon randomisée le THM combiné au placebo, menée sur 3721 femmes non hystérectomisées, a évalué la qualité de vie liée à la santé (70). Le THM avait diminué la sévérité des symptômes vasomoteurs, amélioré la sexualité et réduit les problèmes de sommeil. Dans le groupe THM, moins de femmes ont signalé des bouffées de chaleur, des sueurs nocturnes, des douleurs articulaires ou musculaires, des insomnies ou une sécheresse vaginale. Aucune différence significative n'a été observée pour les autres symptômes de la ménopause ou la dépression.

Risque cardiovasculaire

Dans les études observationnelles qui suggèrent des effets cardiovasculaires bénéfiques de l'hormonothérapie, le traitement est généralement initié au moment de la ménopause. Dans les études prospectives, telle que la WHI, montrant que le traitement [estrogènes conjugués équinés (CEE) combinés avec l'acétate de médroxyprogestérone (MPA)] aggrave le risque [hazard ratio (HR) : 1,24 ; intervalle de confiance à 95 % (IC95) : 0.97–1.60], le traitement a été initié plus d'une décennie après le début de la ménopause ; ces constatations ont conduit au développement de l'hypothèse du « timing ». Cette théorie propose que l'initiation du THM dès l'installation de la ménopause a un effet cardioprotecteur, alors que le début du traitement à une période avancée de la ménopause, lorsque l'état cardiovasculaire s'est déjà dégradé, peut être nocif. En effet, dans la WHI, une tendance à la réduction des taux d'événements cardiovasculaires a été notée chez les femmes qui ont été traitées lors des 10 premières années de la ménopause ou qui ont 50 ans au moment de l'inclusion dans l'essai. Dans le bras THM combiné, les femmes traitées dans les 10 premières années de la ménopause avaient un HR d'événements cardiovasculaires de 0,89, comparativement à 1,71 pour celles traitées après plus de 20 ans. L'hypothèse du timing est aussi étayée par plusieurs études récentes. Une méta-analyse de la mortalité des femmes récemment ménopausées sous THM a présenté les résultats combinés de 19 essais cliniques randomisés qui incluent 16 000 femmes d'âge moyen 55 ans, pour un total de 83 000 patientes-années. Cette étude a montré un risque relatif de mortalité de 0,73, avec un IC à 95 % de 0.52–0.96 (71). Elle a également montré un bénéfice cardiovasculaire lorsque le THM a été initié dès le début, confortant l'hypothèse du timing. Deux essais randomisés prospectifs en cours devraient confirmer cette hypothèse : la Kronos Early Estrogen Prevention Study (KEEPS) et le Early vs. Late Intervention Trial with Estradiol (ELITE) ; ils mesurent l'effet de l'initiation précoce de l'hormonothérapie sur le développement et la progression de l'athérosclérose (72).

Dans la WHI, les femmes randomisées dans le groupe CCE seul avaient le même risque d'événements coronariens que les femmes recevant le placebo. En outre, les femmes âgées de 50-59 ans au début du traitement, et ayant des calcifications coronariennes mesurées par tomographies par ordinateur, avaient des scores significativement plus faibles sous CEE, à la fin de l'essai, que celles qui avaient reçu un placebo (73). Dans cette population de femmes récemment ménopausées, l'incidence et le risque absolu d'événements coronariens étaient faibles. Dans une méta-analyse plus récente, les résultats ont été examinés après la mise en commun des données de l'estrogénothérapie seule de la WHI et des essais THM combiné (74). Les femmes incluses dans les 10 premières années de la ménopause avaient un hazard ratio (HR) d'événements cardiovasculaires de 0,76 (IC : 0.50–1.16). Le HR était de 1.10 (IC : 0.84–1.45), lorsque le traitement avait été instauré 10 à 19 après le début de la ménopause et de 1,28 (IC : 1.03–1.58), lorsqu'il avait débuté après plus de 20 ans. La valeur de *p* pour la tendance a été de 0,02, très en faveur de l'hypothèse du timing.

Une étude cas-témoin effectuée à l'intérieur de la WHI suggère que le risque cardiovasculaire présent au début du traitement pourrait moduler le risque de maladie coronarienne sous hormonothérapie (75). Le statut lipidique avant traitement a été obtenu pour 271 patientes atteintes de maladies coronariennes et 707 témoins. Les femmes sous CEE ou THM combiné avec un rapport de cholestérol LDL/HDL de moins de 2,5 n'ont eu aucune augmentation du risque et une tendance à la réduction du risque de coronaropathies (odds ratio de 0,60 ; IC 95 % : 0.34–1.06). Au contraire, les femmes avec un rapport de cholestérol LDL/HDL de plus de 2,5 avaient un risque accru de maladies corona-

riennes. L'odds ratio était de 1,73 avec un IC à 95 % de 1.18–2.53 (p pour l'interaction : 0,02). Ce résultat suggère la possibilité de stratifier les patientes en groupes selon les effets cardiovasculaires attendus de l'hormonothérapie : celles qui seront bénéficiaires ou au contraire celles qui sont plus à risque.

Accidents vasculaires cérébraux (AVC)

- Incidence

L'incidence des AVC est clairement dépendante de l'âge. La Framingham Heart Study, après 56 ans de suivi, montre une nette augmentation des AVC après 55 ans (76). L'étude observationnelle prospective effectuée sur les femmes incluses dans la Nurses' Health Study montre que le THM et les estrogènes seuls sont associés à un risque accru d'accident vasculaire cérébral, conclusions similaires à celles de la WHI (77). Une augmentation relative du risque d'AVC a été trouvée chez les femmes démarrant le THM lors de l'installation de la ménopause et chez celles commençant à un âge plus avancé. Toutefois, l'incidence absolue des accidents vasculaires cérébraux était plus faible dans le groupe commençant le THM au début de la ménopause. Les femmes traitées par THM oral avaient une augmentation du risque d'AVC sauf pour les doses faibles (0,3 mg de CEE) [RR : 0,54 (IC 95 % : 0,28-1,06)] (77). Les femmes traitées dès le début de la ménopause à des doses de THM percutané inférieures (<50 µg E2 en percutané) à celles prescrites de façon traditionnelle n'ont pas d'augmentation du risque d'accident vasculaire cérébral [RR : 0.81 (IC 95%: 0.62 -1.05)] contrairement à celles traitées avec des doses élevées (>50µg E2) [RR:1.89 (1.15 - 3.11)] (78). Le risque ne semble pas différent sous THM combiné et estrogènes seuls. La relation entre la date de début du THM et un risque accru d'athérosclérose carotidienne est en cours d'évaluation dans les études KEEPS et ELITE, qui examinent l'épaisseur intima-média de la carotide. Les modifications vasculaires recherchées dans ces études pourraient prédire le risque d'AVC.

- Ischémie versus hémorragie

Dans une étude récente l'OR des accidents ischémiques transitoires, des AVC ischémiques et des AVC hémorragiques pour les femmes prenant un THM étaient respectivement 1.48 (IC 95 % : 1.17-1.87), 1.12 (IC 95 % : 0.78-1.59) et 1.21 (IC 95 % : 0.76-1.93), comparées aux non utilisatrices (79). Le risque global d'avoir un AVC était de 1.34 (IC 95 % : 1.11-1.61). Le risque d'accident ischémique transitoire était plus grand (1.96) parmi les femmes prenant de fortes doses d'estrogènes. Dans la WHI (80), sous THM combiné le hazard ratio (HR) était de 1,55 (IC à 95 % : 1.19 - 2.01) pour les accidents vasculaires cérébraux ischémiques et de 0,64 (0,35- 1,18) pour les accidents vasculaires cérébraux hémorragiques. L'excès de risque d'accidents ischémiques est significatif dans toutes les catégories, y compris pour les femmes récemment ménopausées et pour celles présentant une utilisation antérieure ou actuelle de statines ou d'aspirine. Les estrogènes conjugués équins (CEE) augmentent le risque d'AVC ischémique chez les femmes ménopausées généralement en bonne santé. L'excès de risque semble être présent dans tous les sous-groupes de femmes examinées, y compris les femmes plus jeunes et récemment ménopausées. Il n'y n'avait aucune preuve convaincante que les CEE avaient un effet sur le risque d'accident vasculaire cérébral hémorragique (80).

Thrombophlébites

Une méta-analyse récente a examiné le risque de maladie thromboembolique veineuse chez les femmes utilisant le traitement hormonal (81). L'odds ratio des premiers accidents thromboemboliques chez les utilisatrices de l'estrogénothérapie orale était significativement élevé, avec un risque relatif de 2,5 (IC : 1,9–3,4). Les accidents thrombo-emboliques survenaient surtout après la première année du traitement. Le risque de thrombose veineuse était moins élevé et non significatif chez les utilisatrices d'estrogènes transdermiques (risque relatif : 1,2 ; IC : 0,9–1,7). Le risque de thrombose veineuse était semblable pour les estrogènes seuls par voie orale et le THM par voie orale. Les anciennes utilisatrices d'estrogènes par voie orale avaient un risque identique à celui des non utilisatrices, ce qui suggère que cet effet est dû à une action sur les facteurs de la coagulation. La WHI montre également un retour au risque de base 2,4 ans après l'arrêt du THM (82). Bien que de nombreuses études soient en faveur d'un risque thromboembolique veineux plus faible avec une préparation d'hormone transdermique, aucune n'a été randomisée, ou n'a pris en compte les différences dans les schémas d'administration (81). La voie orale a l'avantage théorique sur la voie transdermique, de donner une plus grande réduction du cholestérol total et des LDL et une augmentation des HDL mais elle augmente le taux circulants des facteurs de la coagulation et des triglycérides. Des essais cliniques randomisés sont nécessaires afin de déterminer si des changements dans les facteurs de risque amèneront des modifications du risque au fil du temps.

Cancer du sein

- THM combiné versus estrogènes seuls

Les études prospectives ont confirmé l'effet du THM combiné sur le cancer du sein, largement démontré par les études observationnelles. La WHI a également montré l'absence d'augmentation significative du risque de cancer du sein chez les femmes traitées par les CEE seuls sur un suivi moyen de 7 ans (risque relatif : 0,80 ; IC 95 % : 0,62–1,04) (83). L'analyse ultérieure par sous-groupes a démontré que les femmes qui suivaient un traitement par les CEE ont une réduction significative de cancer du sein invasif (84).

- La date de début du traitement

Cet effet peut-être dépendant du temps écoulé entre le début de la ménopause et le début du traitement. Commencer le traitement par les estrogènes plus de 5 ans après le début de la ménopause est associé à une réduction significative du risque de cancer du sein (risque relatif, 0,58 ; IC : 0,36–0,93), alors que le débiter dès le début de la ménopause ne procure aucun bénéfice. Une récente étude française d'observation confirme cette observation (85). Entre 1992 et 2005, un total de 1726 cancers du sein a été identifié parmi les 53 310 femmes ménopausées suivies pendant une moyenne de 8,1 ans. Dans les 2 premières années après l'initiation du THM, le HR pour la détection du cancer du sein est de 1,54 (IC 95 % : 1,28–1,86) quand le traitement est initié dans les 3 ans après le début de la ménopause, alors qu'il n'est pas élevé (HR ; 1,00 ; IC : 0,68–1,47) lorsque le traitement est débuté plus de 3 ans après l'installation de la ménopause.

- Effet promoteur des stéroïdes

Le mécanisme par lequel les estrogènes et les progestatifs influencent le tissu mammaire et le développement du cancer du sein chez les femmes n'est pas encore parfaitement connu. La majorité des cancers du sein se développe lentement pendant de nombreuses

années. Le diagnostic du cancer du sein moins de 5 ans après le début du traitement dans les essais cliniques comme la WHI suggère que ces tumeurs découlent de cancers préexistants non détectés avant l'entrée dans les essais. Par conséquent, il est probable que les THM combinés exercent un effet promoteur sur les tumeurs occultes plutôt qu'un effet initiateur de nouvelles tumeurs. Cette hypothèse est en accord avec les études observationnelles qui montrent une diminution du risque 5 ans après l'arrêt du THM, résultat confirmé par l'étude d'une cohorte américaine de 67000 femmes ménopausées suivies pendant 13 ans (86).

Un grand nombre d'études observationnelles ont montré que les femmes avec un cancer du sein diagnostiqué durant l'hormonothérapie peuvent avoir un meilleur pronostic que celles qui ne sont pas sous traitement hormonal. Un récent rapport (87) sur une population de plus de 1 000 femmes traitées pour un cancer du sein et suivies de 1994-2002 est en faveur de cette hypothèse. Celles qui avaient utilisé le THM avant le diagnostic avaient plus souvent des tumeurs de moins de 1 cm, sans ganglion métastatique, de grade 1, et elles avaient une diminution du risque de décès. En fait, les facteurs pronostiques des tumeurs apparaissent meilleurs et les taux de survie plus élevée pour les utilisatrices de l'hormonothérapie, quelle que soit sa durée.

- Le traitement séquentiel ou continu

Une étude récente a montré que les progestatifs prescrits de façon séquentielle ont tendance à augmenter plus faiblement le risque relatif de cancer du sein que les progestatifs utilisés en continu (88). Les traitements estroprogestatifs (EP) oraux et transdermiques étaient associés à des élévations comparables du risque de cancer du sein. L'utilisation de l'acétate de noréthistérone s'accompagne d'un risque plus élevé que celui de la MPA. Ces données suggèrent que le traitement séquentiel peut avoir un effet moins défavorable sur le risque de cancer.

Le cancer de l'endomètre

Bien que l'administration continue ou séquentielle des progestatifs supprime en grande partie l'augmentation du risque induit par les estrogènes, comme l'ont démontré de nombreux essais, y compris la WHI (89), des variations à long terme entre les schémas d'utilisation des progestatifs ont été récemment décrites (90). Les données de près de 250 000 utilisatrices du THM en Finlande ont été extraites d'un registre national. L'utilisation quotidienne d'un progestatif en continu pendant 3 ans ou plus a été associée à une réduction significative du risque de cancer de l'endomètre de type I. Tous les progestatifs utilisés semblent être efficaces. L'utilisation de l'association EP en continue entraîne une réduction de 76 % du risque de cancer de l'endomètre (IC : 6-60 %). Cet effet a été d'abord observé après 3 à 5 ans d'utilisation et persiste après 10 ans. En revanche, les traitements séquentiels utilisés à long terme (> 5 ans) était associés à un risque accru par rapport à l'absence de THM. En outre, l'utilisation séquentielle des progestatifs tous les 3 mois a entraîné une augmentation supplémentaire du risque de près de 300 %.

Le cancer de l'ovaire

Plusieurs études récentes ont montré une augmentation faible mais significative du risque de cancer épithélial de l'ovaire chez les utilisatrices actuelles et récentes d'estrogènes (91). Dans une étude de cohorte prospective incluant toutes les femmes danoises âgées de 50-79 ans sous traitement hormonal, suivies de 1995 à 2005, près de 1 million

ont eu un dépistage du cancer de l'ovaire (92). Plus de 3000 cancers de l'ovaire ont été détectées, dont 2681 étaient des cancers épithéliaux. Comparativement aux femmes qui n'avaient jamais eu d'hormonothérapie, les utilisatrices de THM avaient un risque relatif de cancer tout venant de l'ovaire de 1,38 (IC à 95 % : 1.26–1.51) et de 1,44 (IC à 95 % : 1.30–1.58) pour le cancer épithélial de l'ovaire. Le risque diminue à l'arrêt du traitement. Il n'est plus significatif 2 ans après l'arrêt. Bien que le risque relatif de cancer de l'ovaire soit augmenté avec l'utilisation du THM, le risque absolu est assez faible.

Cancer du colon

Les études observationnelles ont trouvé une réduction du risque de cancer du colon, lié à l'utilisation d'hormones, surtout chez les femmes qui ont utilisé des EP. Bien que l'incidence globale ait diminué, une plus grande proportion de tumeurs de mauvais pronostic a été détectée dans la WHI parmi les utilisatrices de THM combiné (93). Sous estrogènes seuls, il n'y n'avait aucune réduction du risque de cancer colorectal (94). La taille de la tumeur, le stade et le grade étaient comparables, comme la mortalité. Dans la phase post THM de la WHI, avec un suivi moyen de 2,4 ans, l'incidence du cancer colorectal n'était plus réduite (95).

Le cancer du poumon

La présence de RE a été démontrée dans le tissu pulmonaire (96, 97). Un certain nombre d'études sont en faveur d'un plus mauvais pronostic des cancers du poumon en présence de taux d'estrogènes élevés (98, 99). La WHI a montré une tendance à l'augmentation du cancer du poumon chez les femmes recevant un THM. Le taux de mortalité de cancer de poumon non à petites cellules dans le groupe THM combiné est supérieur par rapport au groupe placebo. Après une moyenne de 5,6 ans de traitement et de 2,4 ans de suivi supplémentaire, le HR de cancer du poumon était 1.23, avec un IC de 0.92–1.63 (100). Plus de femmes meurent du cancer du poumon dans le groupe THM que dans le groupe placebo (73 vs 40 décès, respectivement ; HR : 1,71 ; IC : 1.16–2.52). Cette observation devrait être prise en compte chez les fumeuses ou celles qui ont d'autres facteurs de risque de cancer du poumon. La Nurses' Health Study ne retrouve, avec le THM, qu'une tendance non significative de risque d'adénocarcinome du poumon (101). Une troisième étude retrouve un plus mauvais pronostic chez les femmes sous hormonothérapie de la ménopause (102), mais d'autres ne confirment pas ce résultat. Il paraît nécessaire d'initier d'autres études afin de préciser l'impact du THM sur le poumon.

Fonctions cognitives

Les pertes de mémoire sont fréquentes au moment de l'installation de la ménopause. L'incidence de la maladie d'Alzheimer et de la démence augmente abruptement avec l'âge et elle est plus élevée chez les femmes. Bien que la cause de cette différence puisse être due à la plus grande longévité des femmes comparées aux hommes, un effet direct des estrogènes a été évoqué, mais les données publiées sont contradictoires. La survenue d'une démence a été l'objectif principal de la WHIMS, sous-étude de la WHI qui inclut les femmes de plus de 65 ans au moment de la randomisation. Le risque de démence était augmenté par le THM. L'effet des CEE+MPA sur les fonctions cognitives chez les femmes âgées de la WHI a été étudié (WHISCA) (103). Les résultats variaient par domaine cognitif examiné, ce qui suggère des actions, tant bénéfiques que néfastes, des hormones ovariennes sur les capacités cognitives des femmes ménopausées. Il a été proposé que

l'hypothèse du timing puisse s'appliquer à la démence. Dans la cohorte des 3C (104), des femmes de 65 ans furent soumises à une batterie de tests cognitifs. À l'examen de plus de 3000 femmes ménopausées naturellement, les utilisatrices du THM ont significativement mieux réussi les tests que les non utilisatrices, avec un effet bénéfique plus important pour les durées de traitement les plus longues. Cependant le THM ne réduit pas significativement les risques de démence au cours de cette étude. Les différences observées entre les résultats de l'étude française et ceux des études américaines peuvent être expliquées par la nature différente des estrogènes et des progestatifs utilisés (E2 et progestérone naturelle dans l'étude française, CEE et MPA dans les études américaines).

Près de 900 femmes ménopausées hystérectomisées de 64 ans d'âge moyen, sans symptôme de démence, ont été incluses dans la WHI et dans l'essai WHIMS, dans lesquels les modifications des fonctions cognitives ont été évaluées. Par rapport au placebo, l'utilisation des CEE n'influçait aucune fonction cognitive examinée. Dans le suivi post thérapeutique (2,7 ans en moyenne), les CEE ne semblaient pas avoir d'effet sur la fonction cognitive des femmes âgées. Dans une autre étude, l'imagerie par résonance magnétique a été réalisée sur plus de 1400 femmes âgées de 65–80 ans et dépourvues de démence ou d'autres troubles cognitifs, 1 à 4 ans après qu'elles eurent participé à la WHI, étude randomisée comparant les CEE au placebo (105). Chez les 53 femmes qui ont développé des troubles cognitifs ou des démences le volume du cerveau et celui de l'hippocampe étaient relativement plus petits. Il serait intéressant de déterminer si la présence d'une atrophie cérébrale pourrait prédire une réponse négative à l'hormonothérapie ou si le traitement contribuerait à son aggravation.

Alternatives du THM

- Les formulations alternatives

Faible dose, administration cyclique plutôt que continue et formulations transdermiques sont considérées comme des alternatives de THM potentiellement favorables. Malheureusement, aucun essai de grande taille, prospectif et randomisé n'existe, permettant des comparaisons objectives. Dans KEEPS, la voie d'administration transdermique est directement comparée avec la voie orale pour déterminer si les deux ont un effet équivalent sur la progression de l'athérosclérose. Lorsqu'on se prononce sur la dose appropriée d'E2, on devrait également prendre en compte l'effet sur l'indice de masse corporelle (IMC). Les femmes en surpoids et obèses sous estrogénothérapie ont souvent une concentration sérique d'estradiol plus élevée comparées aux femmes ayant un IMC normal (106). Les faibles doses d'estrogène pourraient donc être suffisantes pour obtenir le soulagement des symptômes chez les femmes obèses. Il y a des preuves indiquant que les complications thrombotiques sont liées à la dose. Compte tenu de la vaste gamme de dosages disponibles, commencer par un traitement à faible dose est généralement recommandé. Actuellement, les CEE sont disponibles à des doses de 0,3 mg, et l'estradiol à 0,5 mg. Des patchs transdermiques qui délivrent des doses quotidiennes aussi faibles que 14 µg d'estradiol par jour sont également disponibles.

- Les phytoestrogènes

Les phytoestrogènes et les isoflavones ont été proposés comme traitement alternatif. La majorité des études ne montre pas d'avantage significatif sur le THM dans le traitement de l'ostéoporose. Une des dernières compare quatre sources commerciales d'isoflavones, le THM ou un bisphosphonate (107). Le traitement avec la plupart des phytoestrogènes était moins efficace que les bisphosphonates ou le THM. De même, plusieurs études ont

analysé l'effet des phytoestrogènes de soja et la consommation de soja sur le risque de cancer du sein. Ainsi, la Shanghai Women's Health Study établit une corrélation entre la consommation de soja chez plus de 73 000 femmes et le développement du cancer du sein (108). Celles qui consomment la plus grande quantité de soja avaient un risque de cancer du sein significativement réduit (risque relatif : 0,41 ; IC : 0.25–0.70), mais seulement en préménopause, pas en postménopause.

- Les modulateurs du RE

Alors qu'il existe un réel besoin de traiter les symptômes vasomoteurs et les perturbations du sommeil lors de l'installation de la ménopause, les risques à long terme de l'hormonothérapie s'opposent à une longue durée d'utilisation pour la prévention des maladies chroniques. Les thérapies alternatives des symptômes de la ménopause qui n'augmenteraient pas le risque de cancer font cruellement défaut. Parce que le risque de cancer du sein semble être influencé par l'utilisation de progestatifs, des méthodes sont actuellement en cours de développement pour s'opposer à l'effet de l'estrogène sur l'utérus sans l'utilisation d'un progestatif. L'utilisation d'un SERM tel que le raloxifène a un effet sur le risque fracturaire vertébral et prévient le cancer du sein, mais peu d'effets sur les signes climatiques. La combinaison d'une faible dose de CEE avec un modulateur des récepteurs estrogènes (SERM) fournit une nouvelle entité appelée complexe estrogénique spécifique de tissu (TSEC). Les premiers essais cliniques suggèrent que certains TSECs sont efficaces pour réduire les symptômes de la ménopause, augmenter la densité osseuse, tout en ayant des effets favorables sur les lipides, alors qu'ils n'augmentent pas le risque de cancer du sein ni celui de l'endomètre sans adjonction d'un progestatif (109-111). Plus précisément, les CEE avec le bazedoxifène sont efficaces pour réduire les symptômes de la ménopause et améliorer la densité osseuse, avec un profil de tolérance favorable (112-114). Des modèles animaux et des études *in vitro* utilisant des lignées de cellules humaines de cancer du sein suggèrent une stimulation mammaire minimale. La combinaison TSEC promet d'être une amélioration significative dans le soulagement des symptômes vasomoteurs avec des risques potentiellement plus faibles que les traditionnels THM.

Implications thérapeutiques

Dans l'état actuel des connaissances, l'hormonothérapie est appropriée pour le soulagement des symptômes vasomoteurs, mais ne doit pas être utilisée pour la prévention des maladies chroniques. La prévention des fractures est un avantage important de l'hormonothérapie, mais cet avantage est rapidement perdu après l'arrêt de l'hormonothérapie. Une transition par un modulateur sélectif des récepteurs des estrogènes ou un bisphosphonate fournira un bénéfice continu après arrêt du THM pour les femmes qui nécessitent un traitement ou une prévention de l'ostéoporose. En raison des préjudices potentiels de l'utilisation à long terme du THM, notamment de l'augmentation du risque de cancer du sein et potentiellement des cancers du poumon et de l'ovaire, le traitement devrait être arrêté s'il n'est plus nécessaire au traitement des symptômes vasomoteurs liés à la ménopause. Même si on peut obtenir une réduction du risque de maladies coronariennes après un traitement à long terme chez les femmes récemment ménopausées, la prévention de la maladie coronarienne n'est pas une indication du THM. Il faut attendre les résultats des essais KEEPS et ELITE aux USA et des cohortes E3N et EPIC pour disposer de données supplémentaires. Cependant, des éventuels avantages cardiovasculaires obtenus chez les jeunes femmes peuvent être compensés par un risque accru de cancer du sein, surtout avec les combinaisons EP. Pour les femmes hystérectomisées, les estrogènes seuls

BIBLIOGRAPHIE

- 1. Million Women Study Collaborators.** Breast cancer and hormone-replacement therapy in the Million Women Study. *Lancet* 2003 ; **362** : 419–427. - **2. Writing Group for the Women's Health Initiative Investigators.** Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results from the Women's Health Initiative randomized controlled trial. *JAMA* 2002 ; **288** : 321–333. - **3. McMillen I.C., J.S. Robinson.** Developmental origins of the metabolic syndrome: Prediction, plasticity, and programming. *Physiol Rev* 2005 ; **85** : 571–633. - **4. Barlow, B.K.; D.A. Cory-Slechta, E.K. Richfield, et al.** The gestational environment and Parkinson's disease: Evidence for neurodevelopmental origins of a neurodegenerative disorder. *Reprod. Toxicol.* 2007 ; **23** : 457–470. - **5. Bowen, R.L., and C.S. Atwood.** Living and dying for sex. A theory of aging based on the modulation of cell cycle signaling by reproductive hormones. *Gerontology* 2004 ; **50** : 265–290. - **6. Christensen B.C., E.A. Houseman, C.J. Marsit, et al.** Aging and environmental exposures alter tissue-specific DNA methylation dependent upon CpG island context. *PLoS Genet* 2009 ; **5** : e1000602. - **7. Fraga M.F., E. Ballestar, M.F. Paz, et al.** Epigenetic differences arise during the lifetime of monozygotic twins. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005 ; **102** : 10604–10609. - **8. Rakyan V.K., T.A. Down, S. Maslau, et al.** Human aging-associated DNA hypermethylation occurs preferentially at bivalent chromatin domains. *Genome Res* 2010 ; **20** : 434–439. - **9. Seo A.Y., A.M. Joseph, D. Dutta, et al.** New insights into the role of mitochondria in aging: mitochondrial dynamics and more. *J Cell Sci* 2010 ; **123** : 2533–2542. - **10. Germain P., B. Staels, C. Dacquet, et al.** Overview of nomenclature of nuclear receptors. *Pharmacol Rev* 2006 ; **58** : 685–704. - **11. Robinson-Rechavi M., C.V. Maina, C.R. Gissendanner, et al.** Explosive lineage-specific expansion of the orphan nuclear receptor HNF4 in nematodes. *J Mol Evol* 2005 ; **60** : 577–586. - **12. Maestro, M.A., C., Cardalda, S. F., Boj, et al.** Distinct roles of HNF1beta, HNF1alpha, and HNF4 alpha in regulating pancreas development, beta-cell function and growth. *Endocr Dev* 2007 ; **12** : 33–45. - **13. Motola, D.L., C.L. Cummins, V. Rottiers, et al.** Identification of ligands for DAF-12 that govern dauer formation and reproduction in *C. elegans*. *Cell* 2006 ; **124** : 1209–1223. - **14. Antebi A., W.H. Yeh, D. Tait, et al.** daf-12 encodes a nuclear receptor that regulates the dauer diapause and developmental age in *C. elegans*. *Genes Dev* 2000 ; **14** : 1512–1527. - **15. Antebi A., J.G. Culotti, E.M. Hedgecock.** Daf-12 regulates developmental age and the dauer alternative in *Caenorhabditis elegans*. *Development* 1998 ; **125** : 1191–205. - **16. Lapasset L., A. Milhavel, A. Prieur, et al.** Rejuvenating senescent and centenarian human cells by reprogramming through the pluripotent state. *Gene & development* 2011 ; **25** : 2248–2253. - **17. Marion R.M. and M.A. Blasco.** Telomere rejuvenation during nuclear reprogramming. *Current Opin Gen Dev* 2010 ; **20** : 190–196. - **18. Ohmine S., K.A. Squillace, K.A. Hartjes, et al.** Reprogrammed keratinocytes from elderly type 2 diabetes patients suppress senescence genes to acquire induced pluripotency. *Aging* 2012 ; **4** : 60–73. - **19. Tuttle R., K.R. Miller, J.N. Maiorano et al.** Novel senescence associated gene, YPEL3, is repressed by estrogen in ER+ mammary tumor cells and required for tamoxifen-induced cellular senescence. *Int J Cancer* 2012 ; **130** : 2291–2299. - **20. Wend K., P. Wend, S.A. Krum.** Tissue-Specific Effects of Loss of Estrogen during Menopause and Aging. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2012 ; **3** : 19. - **21. Khosla, S., L.J. III Melton, and B.L. Riggs.** The unitary model for estrogen deficiency, and the pathogenesis of osteoporosis: is a revision needed? *J Bone Miner Res.* 2011 ; **26** : 441–451. - **22. Krum, S. A., J. Chang, G. Miranda-Carboni, et al.** Novel functions for NFkappaB: inhibition of bone formation. *Nat. Rev. Rheumatol* 2010 ; **6** : 607–611. - **23. Windahl, S. H., G. Andersson, J.A. Gustafsson.** Elucidation of estrogen receptor function in bone with the use of mouse models. *Trends Endocrinol Metab* 2002 ; **13** : 195–200. - **24. Martin-Millan, M., M. Almeida, E. Ambrogini, et al.** The estrogen receptor-alpha in osteoclasts mediates the protective effects of estrogens on cancellous but not cortical bone. *Mol Endocrinol* 2010 ; **24** : 323–334. - **25. Kremer, M., J. Judd, B. Rifkin, et al.** Estrogen modulation of osteoclast lysosomal enzyme secretion. *J Cell Biochem* 1995 ; **57** : 271–279. - **26. Pantschenko, A. G., W. Zhang, M. Nahounou, et al.** Effect of osteoblast-targeted expression of bcl-2 in bone: differential response in male and female mice. *J. Bone Miner Res* 2005 ; **20** : 1414–1429. - **27. Kousteni, S., T. Bellido, L.I. Plotkin, et al.** Nongenotropic, sex-nonspecific signaling through the estrogen or androgen receptors: dissociation from transcriptional activity. *Cell* 2001 ; **104** : 719–730. - **28. Zhou, S., G. Turgeman, S.E. Harris, et al.** Estrogens activate bone morphogenetic protein-2 gene transcription in mouse mesenchymal stem cells. *Mol Endocrinol* 2003 ; **17** : 56–66. - **29. Novella S, A.P. Dantas, G. Segarra, et al.** Vascular Aging in Women: is Estrogen the Fountain of Youth? *Front Physiol* 2012 ; **3** : 165. - **30. Arnal J.F., C. Fontaine, A. Billon-Galés, et al.** Estrogen receptors and endothelium. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2010 ; **30** : 1506–1512. - **31. Chiu CL, S. Lujic, C. Thornton, et al.** Menopausal hormone therapy is associated with having high blood pressure in postmenopausal women: observational cohort study. *PLoS One* 2012 ; **7** : e40260. - **32. Cooke, P. S., and A. Naaz.** Role of estrogens in adipocyte development and function. *Exp Biol Med* 2004 ; **229** : 1127–1135. - **33. Pedersen, S. B., J.D. Borglum, T. Moller-Pedersen, et al.** Effects of in vivo estrogen treatment on adipose tissue metabolism and nuclear estrogen receptor binding in isolated rat adipocytes. *Mol Cell Endocrinol* 1992 ; **85** : 13–19. - **34. Ohlsson, C., N. Hellberg, P. Parini, et al.** Obesity

and disturbed lipoprotein profile in estrogen receptor-alpha-deficient male mice. *Biochem Biophys Res Commun* 2000 ; **278** : 640–645. - **35. Turgeon J.L., M.C. Carr, P.M. Maki, et al.** Complex actions of sex steroids in adipose tissue, the cardiovascular system, and brain: Insights from basic science and clinical studies. *Endocr Rev* 2006 ; **27** : 575–605. - **36. Yoneda, N., S. Saito, M. Kimura, et al.** The influence of ovariectomy on ob gene expression in rats. *Horm Metab Res* 1998 ; **30** : 263–265. - **37. Gui, Y., J.V. Silha, and L.J. Murphy.** Sexual dimorphism and regulation of resistin, adiponectin, and leptin expression in the mouse. *Obes Res* 2004 ; **12** : 1481–1491. - **38. Palin S.L., P. G., McTernan, L. A. Anderson, et al.** 17 β -Estradiol and anti-estrogen ICI: compound 182,780 regulate expression of lipoprotein lipase and hormone-sensitive lipase in isolated subcutaneous abdominal adipocytes. *Metabolism* 2003 ; **52** : 383–388. - **39. Szafran H. and W. Smielak-Korombel,** "The role of estrogens in hormonal regulation of lipid metabolism in women, *Przeql Lek* 1998 ; **55** : 266–270. - **40. Bader M.I., C. Reitmayer, C. Arndt, et al.** Age dependency of estrogen responsiveness in the uterus and adipose tissue of aromatase-knockout (ArKO) mice. 2012 ; **128** : 29–37. - **41. Park, Y. W., S. Zhu, L. Palaniappan, et al.** The metabolic syndrome: prevalence and associated risk factor findings in the US population from the Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988–1994. *Arch Intern Med* 2003 ; **163** : 427–436. - **42. Macotela, Y., J. Boucher, T.T. Tran, et al.** Sex and depot differences in adipocyte insulin sensitivity and glucose metabolism. *Diabetes* 2009 ; **58** : 803–812. - **43. Misso, M. L., C. Jang, J. Adams, et al.** Differential expression of factors involved in fat metabolism with age and the menopause transition. *Maturitas* 2005a ; **51** : 299–306. - **44. Misso, M. L., C. Jang, J. Adams, et al.** Adipose aromatase gene expression is greater in older women and is unaffected by postmenopausal estrogen therapy. *Menopause* 2005b ; **12** : 210–215. - **45. Carr, M. C.** The emergence of the metabolic syndrome with menopause. *J Clin Endocrinol Metab* 2003 ; **88** : 2404–2411. - **46. Wellings S.R., H.M.Jensen, R.G. Marcum.** An atlas of subgross pathology of the human breast with special reference to possible precancerous lesions. *J Natl Cancer Inst* 1975 ; **55** : 231–273. - **47. Anderson E.** Cellular homeostasis and the breast. *Maturitas* 2004 ; **48 Suppl.1** : S13–S17. - **48. Enna S.J., T. Samirajski, B. Beer.** Brain Neurotransmitters and Receptors in Aging and Age-related Disorders. NewYork: Raven Press 1987. - **49. Gillies G.E., S. McArthur.** Independent influences of sex steroids of systemic and central origin in a rat model of Parkinson's disease: a contribution to sex-specific neuroprotection by estrogens. *Horm Behav* 2010 ; **57** : 23–34. - **50. Roth G.S., J.A. Joseph.** Cellular and molecular mechanisms of impaired dopaminergic function during aging. *Ann NY AcadSci* 1994 ; **719** : 129–135. - **51. Roth G.S.** Age changes in signal transduction and gene expression. *Mech Ageing Dev.* 1997 ; **98** : 231–238. - **52. Zhao L., T.E. Morgan, Z. Mao, et al.** Continuous versus cyclic progesterone exposure differentially regulates hippocampal gene expression and functional profiles. *PLoS One* 2012 ; **7** : e31267. - **53. Kastrop A., J. Dichgans, M. Niemeier, et al.** Modifications de la réactivité vasculaire de CO₂ au cours du vieillissement normal. *AVC* 1998 ; **29** : 1311–1314. - **54. Evans W.J.** Skeletal muscle loss: Cachexia, sarcopenia, and inactivity. *Am J Clin Nutr* 2010 ; **91** : 1123S–1127S. - **55. Morley J.E., D.R. Thomas, M.M. Wilson.** Cachexia: Pathophysiology and clinical relevance. *Am J Clin Nutr* 2006 ; **8** : 735–743. - **56. Lowe D.A., K.A. Baltgalvis, S.M. Greising.** Mechanisms behind estrogen's beneficial effect on muscle strength in females. *Exerc Sport Sci Rev* 2010 ; **38** : 61–67. - **57. Pollanen E., V. Fey, T. Tormakangas, et al.** Power training and postmenopausal hormone therapy affect transcriptional control of specific co-regulated gene clusters in skeletal muscle. *Age* 2010 ; **32** : 347–363. - **58. Pollanen E., S. Sipilä, M. Alen, et al.** Differential influence of peripheral and systemic sex steroids on skeletal muscle quality in pre- and post-menopausal women. *Aging Cell* 2011 ; **10** : 650–660. - **59. Ronkainen P.H., V. Kovanen, M. Alen, et al.** Post-menopausal hormone replacement therapy modifies skeletal muscle composition and function: a study with monozygotic twin pairs. *J Appl Physiol* 2009 ; **107** : 25–33. - **60. Ronkainen P.H., E. Pöllänen, M. Alén M, et al.** Global gene expression profiles in skeletal muscle of monozygotic female twins discordant for hormone replacement therapy. *Aging Cell* 2010 ; **9** : 1098–1110. - **61. Lemoine S., P. Granier, C. Tiffocche, et al.** Estrogen receptor alpha mRNA in human skeletal muscles. *Med Sci Sports Exerc* 2003 ; **35** : 439–443. - **62. Wiik A., M. Ekman, O. Johansson, et al.** Expression of both oestrogen receptor alpha and beta in human skeletal muscle tissue. *Histochem Cell Biol* 2009 ; **131** : 181–189. - **63. Dieli-Conwright C.M., T.M. Spektor, J.C. Rice, et al.** Influence of hormone replacement therapy on eccentric exercise induced myogenic gene expression in postmenopausal women. *J Appl Physiol* 2009 ; **107** : 1381–1388. - **64. Heine, P.A., J.A. Taylor, G.A. Iwamoto, et al.** Increased adipose tissue in male and female estrogen receptor- alpha knock out mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000 ; **97** : 12729–12734. - **65. Barros, R.P., U.F. Machado, M. Warner, M., et al.** Muscle GLUT4 regulation by estrogen receptors ER beta and ER alpha. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006 ; **103** : 1605–1608. - **66. Pedraza-Alva, G., J.M. Zingg, A. Donda, A., et al.** Estrogen receptor regulates MyoD gene expression by preventing AP-1-mediated repression. *Biochem. Biophys. Res Commun* 2009 ; **389** : 360–365. - **67. Vasconsuelo A., L. Milanese, R. Boland.** 17 β -Estradiol abrogates apoptosis in murine skeletal muscle cells through estrogen receptors: role of the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway. *J Endocrinol* 2008 ; **196** : 385–397. - **68. Ronda A.C., A. Vasconsuelo, A., R. Boland.** Extracellular- regulated kinase and p38 mitogen-activated protein kinases are involved in the antiapoptotic action of 17 β -estradiol in skeletal muscle cells. *J Endocrinol* 2010 ; **206** : 235–246. - **69. Jacobsen D.E., M.M. Samson, Y.T. Van Der Schouw, et al.** Efficacy of tibolone and raloxifene for the maintenance of skeletal muscle strength, bone mineral density, balance, body composition, cognitive

function, mood/depression, anxiety and quality of life/well-being in late postmenopausal women ≥ 70 years: study design of a randomized, double-blind, double-dummy, placebo-controlled, single-center trial. *Trials* 2008 ; **9** : 32. - **70. Welton A.J., M.R. Vickers, J. Kim, et al.** WISDOM team. Health related quality of life after combined hormone replacement therapy: randomised controlled trial. *BMJ* 2008 ; **337** : a1190. - **71. Salpeter S.R., J. Cheng, L. Thabane, et al.** Bayesian meta-analysis of hormone therapy and mortality in younger postmenopausal women. *Am J Med* 2009 ; **122** : 1016–1022. - **72. Harman S.M., E.A. Brinton, M. Cedars, et al.** 2005 KEEPS: The Kronos Early Estrogen Prevention Study. *Climacteric* 2005 ; **8** : 3–12. - **73. Manson J.E., M.A. Allison, J.E. Rossouw, et al.** WHI and WHI-CACS Investigators. Estrogen therapy and coronary-artery calcification. *N Engl J Med* 2007 ; **356** : 2591–2602. - **74. Rossouw J.E., R.L. Prentice, J.E. Manson JE, et al.** Postmenopausal hormone therapy and risk of cardiovascular disease by age and years since menopause. *JAMA* 2007 ; **297** : 1465–1477. - **75. Bray P.F., J.C. Larson, A.Z. Lacroix, et al.** Women's Health Initiative Investigators. Usefulness of baseline lipids and C-reactive protein in women receiving menopausal hormone therapy as predictors of treatment-related coronary events. *Am J Cardiol* 2008 ; **101** : 1599–1605. - **76. Petrea RE, Beiser AS, Seshadri S, et al.** Gender differences in stroke incidence and poststroke disability in the Framingham Heart Study. *Stroke* 2009 ; **40** : 1032–37. - **77. Grodstein F, J.E. Manson, M.J. Stampfer, et al.** Postmenopausal hormone therapy and stroke: role of time since menopause and age at initiation of hormone therapy. *Arch Intern Med* 2008 ; **168** : 861–866. - **78. Renoux C, Dell'aniello S, Garbe E, et al.** Transdermal and oral hormone replacement therapy and the risk of stroke: a nested case-control study. *BMJ* 2010 ; **340** : c2519. - **79. Arana A, C. Varas, A. González-Pérez, et al.** Hormone therapy and cerebrovascular events: a population-based nested case-control study. *Menopause* 2006 ; **13** : 730–6. - **80. Hendrix S.L., S. Wassertheil-Smoller, K.C. Johnson, et al.** WHI Investigators. Effects of conjugated equine estrogen on stroke in the Women's Health Initiative. *Circulation* 2006 ; **113** : 2425–2434. - **81. Canonico M., G. Plu-Bureau, G.D. Lowe, et al.** Hormone replacement therapy and risk of venous thromboembolism in postmenopausal women: systematic review and meta-analysis. *BMJ* 2008 ; **336** : 1227–1231. - **82. Heiss G., R. Wallace, G.L. Anderson, et al.** WHI Investigators. Health risks and benefits 3 years after stopping randomized treatment with estrogen and progestin. *JAMA* 2008 ; **299** : 1036–1045. - **83. Prentice R.L., R.T. Chlebowski, M.L. Stefanick, et al.** Conjugated equine estrogens and breast cancer risk in the Women's Health Initiative clinical trial and observational study. *Am J Epidemiol* 2008 ; **167** : 1407–1415. - **84. Stefanick M.L., G.L. Anderson, K.L. Margolis, et al.** 2006 WHI Investigators. Effects of conjugated equine estrogens on breast cancer and mammography screening in postmenopausal women with hysterectomy. *JAMA* 2006 ; **295** : 1647–1657. - **85. Fournier A., S. Mesrine, M.C. Boutron-Ruault, et al.** Estrogen-progestagen menopausal hormone therapy and breast cancer: does delay from menopause onset to treatment initiation influence risks? *J Clin Oncol* 2009 ; **27** : 5138–5143. - **86. Calle E.E., H.S. Feigelson, J.S. Hildebrand, et al.** Postmenopausal hormone use and breast cancer associations differ by hormone regimen and histologic subtype. *Cancer* 2009 ; **115** : 936–945. - **87. Sener S.F., D.J. Winchester, D.P. Winchester, et al.** The effects of hormone replacement therapy on postmenopausal breast cancer biology and survival. *Am J Surg* 2009 ; **197** : 403–407. - **88. Lyytinen H., E. Pukkala, O. Ylikorkala.** Breast cancer risk in postmenopausal women using estradiol-progestogen therapy. *Obstet Gynecol* 2009 ; **113** : 65–73. - **89. Anderson G.L., H.L. Judd, A.M. Kaunitz, et al.** Women's Health Initiative Investigators. Effects of estrogen plus progestin on gynecologic cancers and associated diagnostic procedures: the Women's Health Initiative randomized trial. *JAMA* 2003 ; **290** : 1739–1748. - **90. Jaakkola S., H. Lyytinen, E. Pukkala, et al.** Endometrial cancer in postmenopausal women using estradiol-progestin therapy. *Obstet Gynecol* 2009 ; **114** : 1197–1204. - **91. Rossing M.A., K.L. Cushing-Haugen, K.G. Wicklund, et al.** Menopausal hormone therapy and risk of epithelial ovarian cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2007 ; **16** : 2548–2556. - **92. Mørch L.S., E. Løkkegaard, A.H. Andreassen, et al.** Hormone therapy and ovarian cancer. *JAMA* 2009 ; **302** : 298–305. - **93. Chlebowski R.T., J. Wactawski-Wende, C. Ritenbaugh, et al.** Women's Health Initiative Investigators. Estrogen plus progestin and colorectal cancer in postmenopausal women. *N Engl J Med* 2004 ; **350** : 991–1004. - **94. Ritenbaugh C., J.L. Stanford, L. Wu, et al.** Women's Health Initiative Investigators. Conjugated equine estrogens and colorectal cancer incidence and survival: the Women's Health Initiative randomized clinical trial. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2008 ; **17** : 2609–2618. - **95. Heiss G., R. Wallace, G.L. Anderson, et al.** 2008 WHI Investigators. Health risks and benefits 3 years after stopping randomized treatment with estrogen and progestin. *JAMA* 2008 ; **299** : 1036–1045. - **96. Stabile L.P., A.L. Davis, C.T. Gubish, et al.** Human non-small cell lung tumors and cells derived from normal lung express both estrogen receptor alpha and beta and show biological responses to estrogen. *Cancer Res* 2002 ; **62** : 2141–2150. - **97. Mollerup S., K. Jorgensen, G. Berge, A. Haugen.** Expression of estrogen receptors alpha and beta in human lung tissue and cell lines. *Lung Cancer*. 2002 ; **37** : 153–159. - **98. Ganti A.K., A.E. Sahmoun, A.W. Panwalkar et al.** Hormone replacement therapy is associated with decreased survival in women with lung cancer. *J Clin Oncol*. 2006 ; **24** : 59–63. - **99. Niikawa H., T. Suzuki, Y. Miki et al.** Intratumoral estrogens and estrogen receptors in human non-small cell lung carcinoma. *Clin Cancer Res* 2008 ; **14** : 4417–4426. - **100. Chlebowski R.T., A.G. Schwartz, H. Wakelee, et al.** Women's Health Initiative Investigators. Oestrogen plus progestin and lung cancer in postmenopausal women (Women's Health Initiative trial): a post-hoc analysis of a randomized controlled trial. *Lancet* 2009 ; **374** :

1243–1251. - **101. Baik C.S., G.M. Strauss, F.E. Speizer, et al.** Reproductive factors, hormone use, and risk for lung cancer in postmenopausal women, the Nurses' Health Study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2010 ; **19** : 2525–2533. - **102. Ganti A.K., A.E. Sahmoun, A.W. Panwalkar, et al.** Hormone replacement therapy is associated with decreased survival in women with lung cancer. *J Clin Oncol* 2006 ; **24** : 59–63. - **103. Resnick S.M., P.M. Maki, S.R. Rapp, et al.** 2006 Women's Health Initiative Study of Cognitive Aging Investigators. Effects of combination estrogen plus progestin hormone treatment on cognition and affect. *J Clin Endocrinol Metab* 2006 ; **91** : 1802–1810. - **104. Ryan J., I. Carriere, J. Scali, et al.** Characteristics of hormone therapy, cognitive function, and dementia: the prospective 3C Study. *Neurology* 2009 ; **73** : 1729–1737. - **105. Espeland M.A., H.A. Tindle, C.A. Bushnell, et al.** Women's Health Initiative Memory Study. Brain volumes, cognitive impairment, and conjugated equine estrogens. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2009 ; **64** : 1243–1250. - **106. Karim R., W.J. Mack, H.N. Hodis, et al.** Influence of age and obesity on serum estradiol, estrone, and sex hormone binding globulin concentrations following oral estrogen administration in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 2009 ; **94** : 4136–4143. - **107. Weaver C.M., B.R. Martin, G.S. Jackson, et al.** Antiresorptive effects of phytoestrogen supplements compared with estradiol or risedronate in postmenopausal women using (41) Ca methodology. *J Clin Endocrinol Metab* 2009 ; **94** : 3798–3805. - **108. Lee S.A., X.O. Shu, H. Li, et al.** Adolescent and adult soy food intake and breast cancer risk: results from the Shanghai Women's Health Study. *Am J Clin Nutr* 2009 ; **89** : 1920–1926. - **109. Lindsay R., J.C. Gallagher, R. Kagan, et al.** Efficacy of tissue-selective estrogen complex of bazedoxifene/conjugated estrogens for osteoporosis prevention in at-risk postmenopausal women. *Fertil Steril* 2009 ; **92** : 1045–1052. - **110. Archer D.F., V. Lewis, B.R. Carr, et al.** Bazedoxifene/conjugated estrogens (BZA/CE): incidence of uterine bleeding in postmenopausal women. *Fertil Steril* 2009 ; **92** : 1039–1044. - **111. Lobo R.A., J.V. Pinkerton, M.L. Gass, et al.** Evaluation of bazedoxifene/conjugated estrogens for the treatment of menopausal symptoms and effects on metabolic parameters and overall safety profile. *Fertil Steril* 2009 ; **92** : 1025–1038. - **112. Peano B.J., J.S. Crabtree, B.S. Komm, et al.** Effects of various selective estrogen receptor modulators with or without conjugated estrogens on mouse mammary gland. *Endocrinology* 2009 ; **150** : 1897–1903. - **113. Komm B.S.** A new approach to menopausal therapy: the tissue selective estrogen complex. *Reprod Sci* 2008 ; **15** : 984–992. - **114. Kharode Y., P.V. Bodine, C.P. Miller, et al.** The pairing of a selective estrogen receptor modulator, bazedoxifene, with conjugated estrogens as a new paradigm for the treatment of menopausal symptoms and osteoporosis prevention. *Endocrinology* 2008 ; **149** : 6084–6091.

NOTES