Quel THM en 2012 : y a-t-il un impact différent selon les schémas et les voies d'administration ?

G. André
(Strasbourg)

Résumé

La voie d'administration transdermique majoritairement prescrite en France a des avantages en termes de sécurité. L'absence de premier passage hépatique est sans effet sur les facteurs de coagulation, ce qui assure une neutralité vis-à-vis du risque thrombotique et sans doute aussi d'AVC. Face à une patiente à risque vasculaire ou métabolique, son administration est donc préférentielle. En présence d'une patiente symptomatique de la cinquantaine, en bonne santé, une voie orale peut tout à fait être indiquée, d'autant qu'il faut rappeler que les études épidémiologiques en faveur d'une protection cardiovasculaire n'existent que pour la voie orale.

Concernant les schémas d'administration, les séquences combinées-continues protègent sans doute mieux l'endomètre, alors que les risques mammaires pourraient être moindres avec un traitement séquentiel. Les estrogènes administrés seuls ont un risque mammaire bien inférieur à l'administration d'un estroprogestatif. Indépendamment des séquences et des molécules, le moment d'administration apparaît fondamental. Le risque

15 boulevard Ohmacht - 67000 Strasbourg

Correspondance : gabriel.andre2@wanadoo.fr

mammaire est majoré avec une administration hormonale précoce au moment de l'installation de la ménopause. C'est le moment habituel de prescription, là où apparaissent les symptômes. Cette administration précoce, dans la « fenêtre d'intervention », doit aussi être respectée pour espérer un bénéfice cardiovasculaire…

Mots clés : THS, voie d'administration, thrombose, risques cardiovasculaires, syndrome métabolique, schémas combinés-continus, schémas séquentiels, cancer de l'endomètre, cancer du sein

Déclaration publique d'intérêt

L'auteur déclare avoir les intérêts suivants : consultant, séminaires et/ou conférences pour Bayer-Schering, Weyth, Solvay, Théramex, Besins.

La voie transdermique est la plus prescrite en France pour des raisons historiques, et ce contrairement à la plupart des autres pays où la voie orale reste encore majoritaire. L'absence de premier passage hépatique, longtemps sous-estimé, est aujourd'hui reconnu comme déterminant. Ce premier passage explique l'essentiel des différences entre les 2 voies et assure à la voie transdermique une plus grande neutralité métabolique, gage de sécurité dans les situations à risque. Nous verrons l'impact de la voie d'administration sur le risque thrombotique, le syndrome métabolique (SM) et la protection artérielle.

Concernant les schémas d'administration, les données sont plus confuses, notamment du fait du très grand nombre de progestatifs utilisés. Les séquences combinées-continues protègent sans doute mieux l'endomètre alors que les risques mammaires pourraient être moindres avec un traitement séquentiel. Au niveau mammaire, la

nocivité des estrogènes administrés seuls est inférieure comparativement à celle d'une association estroprogestative. Indépendamment des séquences et des molécules, le moment d'administration apparaît fondamental et nous verrons que le risque mammaire est majoré avec une administration hormonale précoce au moment de l'installation de la ménopause.

I. LES VOIES D'ADMINISTRATION

La voie transdermique est aujourd'hui la plus utilisée en France. Elle diffère de la voie orale et nous verrons successivement, pour le risque thrombotique, le syndrome métabolique et la protection artérielle, en quoi consistent ces différences.

I.1. Le risque thrombotique

L'étude française ESTHER [1] a montré dès 2003 la neutralité de la voie transdermique sur le risque thromboembolique comparativement à la voie orale. Ceci n'était guère étonnant car plusieurs études avaient déjà souligné auparavant l'absence de variations des paramètres de l'hémostase avec la voie transdermique, sans doute par absence de premier passage hépatique, alors que la voie orale était responsable d'une activation de la coagulation-fibrinolyse [2].

Une méta-analyse [3] en 2010 s'est intéressée au risque du premier accident veineux en fonction de la voie d'administration des estrogènes (EG). Elle a colligé, pour la voie orale, 7 études cas-contrôle, 6 études de cohorte et 6 études randomisées, et pour la voie transdermique 4 études cas-contrôle et 2 études de cohorte. Le risque est pour la voie orale RR = 1,9 (1,3-2,3) et pour la voie transdermique RR = 1,0 (0,9-1,1). Plus intéressant encore est le risque d'accidents récurrents [3]. Pour la voie orale, les études poolées ont un RR = 6,7 (2,3-19) et pour la voie transdermique, nous disposons de l'importante étude MEVE du Royal College avec un RR = 0,9 (0,3-3,0). L'étude de Bagot [4] s'est intéressée à la génération de thrombine. Ce paramètre est intéressant parce qu'il donne une approche globale du risque de thrombose. La génération de thrombine n'est pas modifiée par un traitement avec l'estradiol transdermique (E2td) comparativement à un placebo, alors qu'elle est significativement plus élevée avec un estrogène

oral (EO). Dans ce travail, le pic de thrombine était proportionnel au taux d'estrone plasmatique, métabolite principal des EO.

Cette neutralité sur le risque thrombotique explique sans doute la supériorité que pourrait avoir la voie transdermique vis-à-vis du risque d'accident vasculaire cérébral (AVC). Le traitement hormonal substitutif (THS) donné per os, contrairement à ce qui est observé pour le risque coronarien, s'accompagne constamment d'une légère augmentation du risque d'AVC même dans la tranche d'âge 50-60 ans. Ceci s'observe à la fois dans les études d'observation et dans les études randomisées [5, 6]. En fait, contrairement aux artères coronaires où l'athérome joue un rôle majeur, les artères cérébrales sont surtout sensibles à la thrombose et à l'inflammation. Une étude française de la cohorte PAQUID a évalué en prospectif 9 294 sujets âgés, revus tous les 2 ans. Elle a montré qu'une génération de thrombine élevée était associée à un risque d'AVC ischémique significativement élevé chez la femme, mais ne s'accompagnait pas d'un surcroît d'accident coronarien. Alors la voie transdermique aurait-elle une neutralité vis-à-vis du risque d'AVC, même à un âge avancé ? C'est ce que semble montrer la très importante étude de population de Renoux [7], qui a évalué 15 710 femmes entre 50 et 79 ans sans antécédent vasculaire cérébral, ayant présenté un AVC avec des posologies estrogéniques standard ou modérées. Avec la voie orale RR = 1,25 (1,12-1,40) alors qu'avec la voie transdermique il n'y a pas d'augmentation du risque RR = 0,80 (0,62-1,05), le risque étant par ailleurs indépendant de la présence ou non de progestatifs.

I.2. Le syndrome métabolique

La ménopause, et la carence estrogénique qui l'accompagne, induisent des modifications métaboliques défavorables. Celles-ci concernent les lipides, l'équilibre insuline-glucose, le poids, la pression artérielle, la coagulation-fibrinolyse. Ces modifications ont tendance à faire coïncider entrée en ménopause et apparition chez la femme d'un véritable syndrome métabolique (SM). La prévalence du SM augmente avec l'âge. Aux États-Unis, 40 à 50 % des femmes ménopausées ont un SM [8]. En France, les chiffres sont sans doute inférieurs, mais l'obésité et les maladies métaboliques sont en constante augmentation. Le diagnostic de SM [9] (critères de la WHO) nécessite l'association d'un critère majeur : diabète, insulino-résistance (IR), tolérance anormale au glucose, et de 2 critères mineurs : BMI > 30, TA > 130/> 85 mmHg ou triglycérides > 150mg/dl. D'ailleurs 50 % des événements

cardiovasculaires chez la femme seraient en rapport avec un SM. Les données d'études longitudinales dans le sexe féminin montrent une augmentation de la circonférence abdominale et de la masse grasse, débutant déjà quelques années avant la fin des menstruations, et corrélées avec l'augmentation de la FSH [10]. Cette augmentation de la graisse abdominale est responsable d'une augmentation des adipocytokines circulantes impliquées dans l'IR et les maladies CV. Chez les femmes ménopausées obèses avec un SM, il y a une augmentation significative de la leptine et de la résistine, ainsi qu'une réduction de l'adiponectine [11]. Chez ces femmes, la leptine est aussi positivement corrélée à l'IR, au contraire de l'adiponectine, corrélée négativement [11, 12] ; la diminution de cette dernière est particulièrement dommageable, compte tenu de son effet protecteur CV [12].

I.2.a. Diabète et insulino-résistance (IR)

Les données concernant l'IR et le THS sont hétérogènes. Il ressort néanmoins que le traitement hormonal (et avant tout les EG car beaucoup de progestatifs aggravent l'IR) a un effet bénéfique en diminuant l'IR et l'apparition de nouveaux diabètes. Dans les études randomisées, une diminution significative du nombre de diabètes est observée, 80, 15 et 14 pour 10 000 femmes par année respectivement pour l'étude HERS, la WHI E+P et la WHI E seules [13]. Dans la plupart des études chez les femmes diabétiques, une amélioration du contrôle glycémique est observée avec le THS [14, 15]. Une méta-analyse de tous les essais disponibles montre une réduction de l'IR de 12,9 % (17,1 % à 8,6 %) [16], mais avec des doses élevées d'estrogènes conjugués équins (ECE) une majoration de l'IR a été rapportée. Cette méta-analyse trouve un effet favorable des EG sur l'IR, effet un peu plus marqué avec les EO qu'avec les E2td. Une petite supériorité dans l'apparition de nouveaux diabètes est également trouvée dans l'étude E3N avec la voie orale [17]. À signaler toutefois que dans cette étude, c'est l'association E2td et progestérone naturelle (PN) qui donne les meilleurs résultats avec une diminution de 33 % d'apparition de nouveaux diabètes.

Les résultats précédents ont été établis chez des femmes en ménopause et en bonne santé. Il n'en va pas de même chez celles déjà affectées par un SM où les effets diffèrent suivant la voie d'administration. Une étude randomisée montre une aggravation de l'IR avec un EO (E2 1 mg), au contraire de la voie transdermique (0,05 mg) [18]. Avec les EO, on observe une augmentation de la leptine, l'adiponectine n'étant pas modifiée, alors qu'avec l'E2td la leptine ne varie pas, mais l'adiponectine augmente significativement [19]. Les

2 voies ont donc un effet inverse sur le profil des adipocytokines, avec un bénéfice pour l'E2td. Avec la voie orale s'ajoute une augmentation des MMP-9 et de la CRP [20]. Ces deux derniers facteurs sont particulièrement importants dans la genèse de la maladie CV, et nous y reviendrons dans l'appréciation du risque cardiovasculaire. Dans cette situation, en présence de femmes ayant un SM, il y a donc avantage à prescrire un E2td.

I.2.b. Le poids

Les femmes majoritairement sont persuadées que le THS fait prendre du poids, en fait c'est tout le contraire. Le THS ne fait certes pas maigrir, mais une méta-analyse a montré que le THS diminue significativement la graisse abdominale : - 6,8 % (- 11,8 % à - 1,9 %) sans toutefois modifier significativement la circonférence abdominale [16]. Comme toujours dans ce type d'études, les données sont compliquées du fait des différents traitements utilisés… Les EO ont tendance à augmenter la masse grasse (suppression de l'oxydation lipidique) et à diminuer la masse maigre (diminution de l'IGF-1), au contraire des EG transdermiques [22, 23] qui augmentent la masse maigre en diminuant la masse grasse. Dans une autre étude, l'augmentation de la masse grasse chez les femmes ménopausées est corrélée avec une augmentation de la leptine [24], leptine qui ne varie pas avec l'E2td.

I.2.c. Coagulation-fibrinolyse

Les femmes ménopausées avec un SM ont un état inflammatoire et un déséquilibre de la coagulation-fibrinolyse. Un niveau élevé de CRP, PAI-1 et fibrinogène est souvent retrouvé, comparativement aux femmes post-ménopausées normales [25]. Les effets du THS sont ici très étroitement dépendants de la voie d'administration. Une réduction de certains marqueurs de l'inflammation est constamment retrouvée (ICAM61, VCAM-1, MCP-1, E-sélectine), mais il y a des effets divergents concernant la CRP et la MMP-9 augmentés, comme nous l'avons déjà signalé, avec la seule voie orale [16, 20, 26-29].

I.2.d. Lipides et tension artérielle

La différence majeure entre les deux voies d'administration est une augmentation de l'HDL-C du LDL/HDL, mais aussi des triglycérides avec la voie orale [16]. Pour la voie cutanée, l'augmentation du LDL/HDL est moins marquée et les triglycérides diminuent significativement. La Lp(a) diminue avec les 2 voies d'administration. Chez les femmes ménopausées avec un SM, les variations lipidiques sont de faible amplitude et souvent non significatives [18].

Dans une récente méta-analyse [16], le THS avec EO s'accompagne d'une réduction de la tension artérielle (TA), certes faible (- 1,7 %) mais significative. Il n'y a pas de données épidémiologiques avec la voie transdermique, mais on peut s'attendre à l'absence d'élévation de la TA dite « idiosyncrasique » observée chez certaines patientes avec EO, sans doute en raison du premier passage hépatique et d'une élévation de l'angiotensinogène.

Au total, chez une patiente de la cinquantaine en bonne santé, les deux voies pourront retarder l'apparition d'un éventuel syndrome métabolique et du risque cardiovasculaire qui l'accompagne. Par contre, lorsque quelques éléments de ce syndrome sont déjà présents, la voie cutanée prend l'avantage notamment en raison de son effet favorable sur les cytokines pro-inflammatoires.

I.3. La protection artérielle

Il s'agit là d'un aspect fondamental. À travers le monde, plus de 8,6 millions de femmes décèdent de maladie cardiovasculaire (CV) chaque année [31]. En Europe, la mortalité par cardiopathie ischémique chez la femme est de 23 %, alors que seulement 3 % d'entre elles décèdent de cancer du sein. Les études épidémiologiques concernant le THS étaient en faveur d'une protection cardiovasculaire, mais en 2002 la WHI [32] a tout remis en question, aucune protection n'étant trouvée dans le groupe prenant ECE et de la médroxyprogestérone acétate (MPA)… Il a fallu attendre 2006 pour qu'une protection cardiovasculaire puisse être évoquée chez les femmes jeunes dans le groupe prenant des EG seuls [33]. Il y avait globalement dans ce groupe, avec les ECE seuls, une tendance non significative à la réduction du risque cardiovasculaire RR = 0,91 (0,75-1,12), mais la comparaison par décade publiée a montré, pour un âge de début de traitement 50-59, 60-69 et 70-79, un risque de maladies coronariennes RR = respectivement à 0,63 (0,36-1,08), 0,94 (0,71-1,24) et 1,1 (0,82-1,52). Si les résultats n'étaient pas significatifs pour les accidents coronariens dans le groupe le plus jeune, les pontages coronariens et les interventions de revascularisation étaient significativement réduites dans la tranche d'âge 50-59 ans, RR = 0,55 (0,35-0,86). De nouvelles données concernant l'apparition de calcifications artérielles coronaires dans un sous-groupe de la WHI [34] sont venues renforcer l'idée que le THM pouvait réduire l'athérome chez les femmes jeunes. Ce sous-groupe de 1 064 femmes, dans le bras ECE seul, tranche d'âge

50-59 ans, randomisées *versus* placebo, a bénéficié d'un scanner cardiaque à la recherche de calcifications artérielles coronaires (CAC). Les mesures ont été réalisées 1,3 ans après la fin de l'étude WHI. Le groupe traité avait un CAC score de 32 % inférieur (p = 0,02) et avait plus volontiers un score faible (< à 100) RR = 0,65 (p = 0,03) en intention de traiter et RR = 0,41 (p = 0,004) chez les patientes avec une bonne adhérence au traitement (supérieur à 80 %). Plus le CAC score est élevé, plus le risque cardiovasculaire est important. Un CAC score > 300 est prédictif d'un sur-risque cardiovasculaire 10 fois supérieur dans les trois à cinq ans comparativement à un CAC score < 10 [35].

Une méta-analyse de 23 études randomisées comprenant plus de 39 000 femmes ménopausées évaluant plus de 190 000 années/femmes a montré un bénéfice CV significatif lorsque le THM était introduit précocement [16]. Les femmes ayant débuté leur traitement moins de 10 ans après la ménopause ou avant l'âge de 60 ans (si l'âge de ménopause était inconnu) avaient moins de maladies CV comparativement au placebo, OR = 0,68 (0,38-0,96). Par contre, celles qui étaient en ménopause depuis plus de 10 ans ou étaient âgées de plus de 60 ans au moment de l'introduction du traitement n'avaient aucun bénéfice avec le THM, OR = 1,03 (0,91-1,16). Bien que la WHI forme le gros des patientes de cette méta-analyse, les autres études vont dans le même sens et suggèrent une réduction du risque CV lorsque le THM est administré précocement.

Reconnaissons que tous ces travaux probants en faveur d'une protection CV ont été réalisés avec un estrogène administré per os et le plus souvent avec un ECE. Nous ne disposons pas de données épidémiologiques avec la voie transdermique. Les données fondamentales sont toutefois en faveur d'une action similaire cardiovasculaire, indépendante de la voie d'administration. La voie transdermique pourrait même avoir un certain nombre d'avantages gommant les effets parfois délétères de la voie orale, notamment sur les paramètres de la coagulation et de l'inflammation comme nous l'avons déjà signalé précédemment. La voie transdermique n'augmente pas la CRP au contraire de la voie orale. La Women's Health Study [36] a évalué 10 953 femmes avec THS *versus* 15 838 sans THS. Elle a montré que la CRP pouvait prédire les événements cardiovasculaires de façon linéaire qu'il y ait ou non un traitement hormonal. Au-delà de 3 mg/dl, le risque cardiovasculaire est doublé avec ou sans traitement. De même la MMP-9 n'est pas augmentée par une estrogénothérapie transdermique, alors qu'elle l'est avec une voie orale [20]. Ce paramètre est impliqué dans les accidents thrombotiques en cas de plaques inflammatoires fissurées. Une étude s'intéressant à la mesure de

la vitesse de l'onde de pouls [29] a trouvé une différence entre les deux voies. L'E2td diminue la rigidité artérielle au contraire de l'E2 oral. Une augmentation de la réactivité plaquettaire [37] est associée à la voie orale au contraire de la voie transdermique. Ceci n'est pas sans importance, car une hyperactivité plaquettaire est corrélée à une angine instable, un infarctus du myocarde étendu et une récurrence des coronaropathies. Il n'existe malheureusement aucune étude de comparaison directe entre voie orale et transdermique pour les accidents vasculaires. Le seul élément comparatif dont nous disposions concerne le registre danois [38]. Le suivi de toutes les femmes danoises (698 098) en bonne santé, âgées de 51 à 69 ans entre 1995 et 2010, a recensé 4 947 infarctus du myocarde. Ces infarctus ont été comparés au registre central des prescriptions. Le THS dans son ensemble n'augmente pas le risque d'infarctus du myocarde RR = 1,03 (0,95-1,11), mais l'E2td diminue le risque d'infarctus RR = 0,62 (0,42-0,93) comparativement aux EO et aux non-utilisatrices. Nous attendons les résultats de l'étude KEEPS [39] en cours aux États-Unis, mais cette étude randomisée comparant ECE et patch transdermique d'E2 ne porte que sur des facteurs intermédiaires, réactivité artérielle et calcifications coronaires…

Toutes ces données nous font privilégier l'E2td chez la femme ménopausée en présence de facteurs de risque. Certaines questions demeurent malheureusement sans réponse.

- Peut-on proposer une voie transdermique à une femme symptomatique avec une cardiopathie ischémique avérée ? La seule étude randomisée disponible date de 2002 et a évalué 134 femmes ménopausées âgées en moyenne de 66 ans [40]. Elle a été arrêtée prématurément après 4 ans en raison d'un surrisque d'accident avec le traitement. Malheureusement, le patch proposé ici était très fortement dosé à 80 µg/j. Qu'en aurait-il été avec une dose modérée ?
- Chez une femme traitée, en présence de plaques athéromateuses carotidiennes, faut-il poursuivre ou arrêter le traitement ? Une étude très intéressante compare la composition de plaques athéromateuses de femmes âgées en moyenne de 61 ans, traitées par E2td 50 µg par jour, depuis plus de quatre ans, à celles non traitées [41]. Ces femmes ont toutes une sténose carotidienne sévère (70 %) et asymptomatique. Les plaques des femmes traitées ont un contenu en TNFα, MPP-9, NFκB très significativement inférieur aux femmes non traitées, elles sont donc plus stables. La question se pose d'une interruption

prématurée du traitement hormonal chez une femme avec une découverte inopinée d'une plaque athéromateuse carotidienne asymptomatique. Ne risque-t-on pas, en arrêtant le traitement, de déstabiliser la plaque et de favoriser un accident ? La poursuite de l'E2td ne contribuerait-elle pas au maintien de la stabilité de cette plaque ?

– Peut-on initier un traitement transdermique chez une femme symptomatique après 60 ans, donc en dehors de la « fenêtre d'intervention » ou chez une femme ayant une obésité morbide à 50 ans ? Nous avons vu l'effet favorable de l'E2td sur les adipocytokines [19].

Nous manquons cruellement de *facteurs prédictifs individuels* dont nous aurions un besoin urgent : cytokines, paramètres de coagulation, réactivité endothéliale, tonométrie, épigénétique, imagerie, sont autant de domaines où une collaboration avec les cardiologues pourrait permettre les avancées qui nous font aujourd'hui cruellement défaut.

II. LES SCHÉMAS THÉRAPEUTIQUES

Les différents schémas thérapeutiques, essentiellement cycliques ou combinés, posent la question de savoir s'il y a un intérêt, et lequel, à proposer un schéma de THS mimant le fonctionnement cyclique ovarien antérieur. En dehors des préférences du prescripteur ou de celles de la patiente (qui souhaite ou non la présence de règles), la réponse n'est pas univoque, celle-ci pouvant être différente suivant les organes considérés. Au cours de la vie génitale, deux d'entre eux sont rythmés par la vie ovarienne et ont un fonctionnement cyclique, l'endomètre et le sein. Pour ces organes, nous le verrons, à l'évidence la réponse au traitement hormonal est susceptible de varier en fonction des schémas. Pour d'autres, comme le squelette ou le système cardiovasculaire, le fonctionnement n'est pas cyclique et c'est l'imprégnation estrogénique globale qui semble la plus importante. Pour l'os, l'effet-dose est primordial [42], la nature du progestatif intervenant en second lieu, les progestatifs androgéniques renforçant l'effet des estrogènes [43]. Pour le cardiovasculaire, il n'y a pas de démonstration de la supériorité d'un schéma particulier ni aucun consensus sur une éventuelle dose minimum efficace. Par contre les progestatifs à effets *corticoïdes-like* ou androgéniques (MPA) sont susceptibles de s'opposer à l'effet bénéfique des estrogènes [44].

II.1. L'endomètre

C'est sans doute là où les notions sont les plus claires et les moins discutables. Jusque dans les années 80, on a vécu sur l'idée d'un traitement cyclique nécessaire. Les règles et le renouvellement de l'endomètre étaient perçus comme la meilleure parade à un éventuel processus dégénératif. Il est maintenant admis, au contraire, que c'est le traitement combiné-continu qui assure la meilleure sécurité endométriale. La récente étude européenne EPIC [45] est à cet égard très instructive car les traitements évalués sont, pour beaucoup, aussi commercialisés en France. Cette étude prospective sur 9 ans a identifié 601 cancers de l'endomètre. Avec les EG seuls (curieusement prescrits en présence d'un utérus) le risque est naturellement élevé RR = 2,52 (1,77-3,57). Avec un traitement séquentiel, il est également augmenté RR = 1,52 (1,0-2,29) avec un effet-durée. Déjà, Beresford en 1997 [46] avait montré qu'il pouvait y avoir un échappement après 5 ans avec le schéma séquentiel et avait observé un surcroît de risques de cancer de l'endomètre. Ces résultats sont aussi en accord avec plusieurs autres travaux de la littérature [47-49] (mais pas tous [50, 51]) et il convient de rappeler que c'est avant tout une durée insuffisante de la séquence progestative qui a été incriminée. Le progestatif doit être prescrit au moins sur une durée de 12 jours par cycle [52, 53].

Le traitement combiné dans l'étude EPIC s' accompagne, lui, d'une réduction significative [45] du risque RR = 0,24 (0,08-0,77), le nombre de cas est certes limité, mais ce résultat est là aussi en accord avec la plupart des autres études. La plus importante étude prospective, celle de Beral [47], rapporte une réduction de 30 % du risque de cancer de l'endomètre associé à un traitement combiné-continu RR = 0,71 (0,56-0,93). En fait dans tous ces travaux, le type de progestatif et sa puissance jouent un rôle fondamental [48, 52]. Au contraire des progestatifs dérivés de la testostérone et de la 17OH progestérone, la progestérone naturelle (PN), très utilisée en France, s'est accompagnée dans l'étude E3N, colligée dans EPIC [45], d'un risque majoré. Le risque trouvé après quatre ans de traitement RR = 1,80 (1,22-2,68) est inattendu et surprenant [54]. Le schéma séquentiel 200 mg/j, le seul recommandé dans les RCP, est un schéma validé. L'étude PEPI [55], randomisée en aveugle, a montré qu'une posologie de 200 mg/j, administrée 12 jours au cours d'un cycle estrogénique, permettait une sécurité endométriale comparable à celle de la MPA, progestatif de référence, pendant les trois ans de l'étude. Pour expliquer ces résultats, on peut incriminer les habitudes de prescriptions qui ne sont que 10 jours en préménopause et qui sont souvent poursuivies par la suite, un défaut

d'observance concernant la PN, mais on ne peut exclure un manque de puissance possible de la PN comparativement aux autres progestatifs pour protéger l'endomètre. À signaler dans l'étude EPIC [45] un surcroît de risques chez les femmes les plus âgées, les fumeuses et celles qui ont un BMI < 25.

II.2. Le sein

En 1997, la méta-analyse du Lancet [56] a montré qu'un traitement hormonal estroprogestatif (E+P) s'accompagnait d'une augmentation modérée du risque de cancer du sein RR = 1,02 (1,01-1,04) par année de traitement, soit en risque absolu 2 cancers du sein en plus pour 1 000 femmes pour cinq ans de traitement avec un effet-durée. L'étude WHI [32] randomisée en double aveugle a confirmé ce surcroît de risque. Le risque global est RR = 1,26 (1,0-1,59) pour cinq ans de traitement, mais ce risque n'était toutefois évalué qu'à 1,09 (0,86-1,39) pour les nouvelles utilisatrices. Ce dernier chiffre apparemment favorable ne doit pas faire illusion. Il s'accompagne d'une réduction apparente du risque les deux premières années de prise [57]. Il est avant tout lié aux insuffisances méthodologiques de l'étude : dans la WHI, le suivi n'est assuré que par une seule mammographie annuelle, sans échographie, ni examen clinique systématique. Un traitement E+P prescrit en ménopause entraîne souvent une augmentation de la densité mammaire avec un effet-dose [58]. Cette augmentation de densité sous THS est d'autant plus marquée que la femme est âgée et que la densité de base est plus faible [59]. Un THS E+P introduit avant 60 ans s'accompagne d'une augmentation de densité chez 18 % et après 70 ans chez 43 % des femmes. Ces difficultés de lecture ont non seulement retardé l'alerte visuelle, mais ont aussi généré davantage de biopsies. Celles-ci manquant de précision ont entraîné, et c'est paradoxal compte tenu du risque majoré de cancer, davantage de faux négatifs [60] (*versus* groupe placebo). Signalons qu'avec les EG seuls, la densité augmente, mais plus modestement [61]. L'âge moyen dans la WHI étant de 63 ans, c'est avant tout l'importance de l'augmentation de la densité mammaire au début du traitement qui a empêché un diagnostic précoce par la seule mammographie. C'est ce retard de détection qui a fait croire que le traitement ECE+MPA s'accompagnait de cancers plus évolués avec davantage d'envahissements ganglionnaires. L'étude européenne EPIC [62] (étude prospective, suivi sur 8,6 ans) qui tient compte de nos pratiques est très instructive. Un total de 4 312 cancers du sein a été diagnostiqué durant un suivi d'1 143 747 années/femmes. Comparé au

non-utilisatrices, le risque global est RR = 1,42 (1,23-1,64). Trois points méritent discussion.

II.2.a. Les régimes combinés-continus

Ils ont un risque majoré de 43 % (19-72 %) comparativement aux régimes séquentiels. Pour un même progestatif, la seule comparaison possible l'est avec le NETA. Le surcroît de risque pour les traitements combinés-continus (*versus* séquentiel) est, avec ce progestatif, RR = 1,33 (1,08-1,65). Ces chiffres sont en accord avec une majorité d'autres études rapportées dans la littérature [63-66]. Il a été suggéré que les progestatifs dérivés de la testostérone avaient un risque majoré comparativement à ceux dérivés de la progestérone [63, 64]. Il faut signaler que les associations combinées-continues contenant un dérivé de la testostérone ont une dose de progestatifs deux à trois fois supérieure à celle des traitements séquentiels commercialisés avec le même produit. Au contraire, les combinaisons fixes avec des progestatifs dérivés de la progestérone apportent la même dose quel que soit le schéma. Il ne semble donc pas y avoir de différence entre ces deux types de progestatifs quel que soit le schéma [67]. Réduire la dose totale de progestatifs et diminuer le nombre de jours de prescriptions vont dans le sens d'une réduction du risque mammaire [68-70]. Cette dernière idée est en accord avec les travaux de Foidart [71] montrant qu'un arrêt périodique de progestatifs entraîne une apoptose des cellules mammaires. C'est pour cette raison qu'il est souvent préconisé un arrêt périodique des traitements combinés-continus (prescriptions 25 jours par mois, 3 semaines sur 4, ou 5 jours sur 7). Nous n'avons toutefois aucune certitude concernant la réalité d'une diminution du risque avec ces schémas.

II.2.b. Progestérone et progestatifs

L'étude française E3N [72], portant sur plus de 80 000 patientes suivies 8 ans, a évalué le risque de cancer du sein sous THS en fonction des différents progestatifs et de la progestérone naturelle micronisée (PN). La PN a un RR = 1,0 (0,83-1,22) et la rétroprogestérone ou dydrogestérone (DYD) un RR = 1,16 (0,94-1,43). Elles ne s'accompagnent donc pas d'un risque significatif de cancer du sein au contraire de tous les autres progestatifs de synthèse RR = 1,69 (1,50-1,91). Il s'agit bien sûr d'une étude d'observation avec des biais possibles, mais un certain nombre d'éléments plaident en faveur de la moindre nocivité de la PN. Chez la guenon ovariectomisée [73], l'association E2+PN ne s'accompagne pas d'une augmentation significative du Ki67 au niveau des lobules et des ductules mammaires, au contraire de l'association

E2+MPA. Ceci a été confirmé chez la femme [74] par une étude prospective randomisée avec 60 femmes ménopausées traitées 2 mois. Une biopsie à l'aiguille fine a permis l'évaluation du rapport prolifération/apoptose. Il n'y a aucune augmentation significative du Ki67 avec l'association E2+PN, alors qu'avec ECE+PMA la prolifération cellulaire augmente de façon très significative ($p > 0,003$). L'index apoptotique bcl-2, quant à lui, ne varie pas de façon significative quel que soit le traitement. Par ailleurs, il faut reconnaître que le fait que la DYD, isomère de la PN, avec un effet métabolique très proche de celui de la PN, ait un risque comparable à celui de la PN, est un argument supplémentaire non négligeable.

II.2.c. Les estrogènes

La quasi-totalité des études ont trouvé un risque moindre avec les estrogènes seuls qu'avec une association E+P [72, 75, 76]. L'étude EPIC [62] a montré un risque RR = 1,42 (1,23-1,64) ; ce risque est indépendant de la voie d'administration et du type d'estrogène utilisé (E2 ou ECE). L'amplitude de ce risque peut paraître élevée. Il l'est en tout cas bien plus que celui trouvé par la *Nurses Health Study* [77], l'étude la plus importante (suivi 25 835 femmes ménopausées et hystérectomisées durant 20 ans). Dans cette étude, le risque ne commence à apparaître qu'après 15 ans de traitement RR = 1,18 (0,98-1,48) et il n'est réellement significatif qu'après 20 ans RR = 1,42 (1,13-1,77). L'effet-durée est hautement significatif $p < 0,001$ et les patientes de cette étude prenaient pratiquement toutes des ECE. Dans l'étude française E3N, avec très majoritairement de l'E2, le risque après 8 ans de prise est significatif RR = 1,29 (1,02-1,65). Ces différences peuvent laisser penser que les ECE auraient, sur le sein, un effet moins nocif que l'E2. Cette idée semble crédible lorsqu'on examine les résultats de la WHI ECE seuls [75]. Après 7 ans de traitement chez des femmes hystérectomisées, le risque est HR = 0,77 (0,59-1,01) et cette réduction est significative chez les patientes de l'étude ayant une bonne adhérence au traitement [78] HR = 0,67 (0,47-0,97). Ce risque est également trouvé significativement diminué dans l'étude de suivi [79] (suivi total de 10,7 ans avec au départ 5,9 ans de traitement) HR = 0,77 (0,62-0,95). Les ECE sont en fait très différents de l'E2, ses constituants étant un mélange d'estrogènes, d'androgènes et de progestatifs, l'E2 n'entrant que pour 0,7 % dans sa composition [80]. De plus, l'expression génique est loin d'être superposable pour les 2 estrogènes : concernant notamment les facteurs de croissance intervenant au niveau de la glande mammaire, l'effet stimulant des ECE apparaît moindre que celui de l'E2 [80].

En fait, les données apparemment favorables concernant les ECE, lorsqu'ils sont administrés seuls, dans l'étude WHI doivent être modulées, en fonction du **moment d'administration par rapport à la ménopause**. Chez les femmes ménopausées depuis au moins cinq ans et traitées pour la première fois par ECE [81], le risque est significativement diminué RR = 0,63 (0,42-0,93), mais pour celles traitées dans les cinq ans suivant la ménopause, la protection disparaît RR = 1,06 (0,74-1,51). La MWS [82] fait les mêmes constatations : les EG seuls administrés 5 ans ou plus après le début de la ménopause ne s'accompagnent pas d'un risque accru RR = 1,05 (0,89-1,24), au contraire d'une prise proche du début de la ménopause RR = 1,45 (1,35-1,51). La différence de risque entre les 2 études a d'abord pour origine une méthodologie différente (par ex. moins de mammographies chez les femmes non traitées dans la WMS) et peut être aussi une utilisation de E2 plus importante que d'ECE (dont l'avantage reste bien sûr aujourd'hui encore hypothétique) dans l'étude anglaise. Quoi qu'il en soit, la question du risque mammaire chez les femmes ménopausées prenant des EG seuls, même sur une longue durée, reste encore ouverte…

En fait, l'examen des données suivant le moment d'administration avec les traitements E+P conduit au même constat : le risque est majoré avec une administration dans les 5 premières années *versus* 5 ans après le début de la ménopause : pour la WHI [81] RR = 1,41 (1,14-1,74) *versus* 1,15 (1,96-1,37) et pour la WMS [82] RR = 2,04 (1,95-2,14) *versus* 1,53 (1,38-1,70). Dans l'étude E3N [83], avec E2+PN ou E2+DYD instauré dans les 3 ans suivant la ménopause, un petit risque n'est observé qu'après 5 ans de prise.

En fait, des travaux fondamentaux montrent qu'après un temps de privation estrogénique suffisant, la cellule glandulaire mammaire perd son hypersensibilité aux EG. Ce processus d'adaptation fait apparaître des modifications de comportement cellulaire et les EG administrés après cette période de carence, au contraire de leur effet proliératif habituel, entraînent une apoptose [84, 85].

Au total, même s'il est possible que les ECE aient un effet proliératif moindre que l'E2, le moment d'administration par rapport à la ménopause est essentiel à considérer. Le traitement hormonal substitutif étant prescrit habituellement en début de ménopause lorsqu'apparaissent les symptômes, c'est à cette période que le risque mammaire est maximum…

CONCLUSION

Concernant les voies d'administration, la voie transdermique, majoritairement prescrite en France, a des avantages en termes de sécurité. L'absence de premier passage hépatique, ne modifiant pas les facteurs de coagulation, assure une neutralité vis-à-vis du risque thrombotique et sans doute aussi d'AVC. En présence d'une patiente à risque vasculaire ou métabolique, c'est la voie d'administration préférentielle. Face à une patiente symptomatique de la cinquantaine en bonne santé, une voie orale peut tout à fait être indiquée, d'autant qu'il faut rappeler que les études épidémiologiques en faveur d'une protection cardiovasculaire n'existent que pour les EO.

Concernant les schémas, les séquences combinées-continues protègent sans doute mieux l'endomètre, alors que les risques mammaires pourraient être moindres avec un traitement séquentiel. Indépendamment des séquences et des molécules, le moment d'administration apparaît fondamental. Le risque mammaire est majoré avec une administration hormonale précoce au moment de l'installation de la ménopause. Or c'est là qu'apparaissent les symptômes et que les femmes demandent à être soulagées. Combattre les symptômes est aujourd'hui la première indication du THM. Mais une prescription précoce, dans la fenêtre d'intervention, est aussi celle qui permet d'espérer un bénéfice cardiovasculaire…

Bibliographie

[1] Scarabin PY, Oger E, Plu-Bureau G. Differential association of oral and transdermal estrogen-replacement therapy with venous thromboembolism risk. Lancet 2003;362(9382): 428-32.

[2] Vehkavaara S, Silveira A, Hakala-Ala-Pietila T *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(4):619-25.

[3] Olie V, Canonico M, Scarabin PY. Risk of venous thrombosis with oral *versus* transdermal estrogen therapy among postmenopausal women. Curr Opin Hematol 2010;17(5):457-63.

[4] Bagot CN, Marsh MS, Whitehead M *et al.* The effect of estrone on thrombin generation may explain the different thrombotic risk between oral and transdermal hormone replacement therapy. J Thromb Haemost 2010;8(8):1736-44.

[5] Grodstein F, Manson JE, Colditz GA, Willett WC, Speizer FE, Stampfer MJ. A prospective, observational study of post-menopausal hormone therapy and primary prevention of cardiovascular disease. Ann Intern Med 2000;133(12):933-41.

[6] Rossouw JE, Prentice RL, Manson JE *et al.* Postmenopausal hormone therapy and risk of cardiovascular disease by age and years since menopause. JAMA 2007;297(13):1465-77.

[7] Renoux C, Dell'aniello S, Garbe E, Suissa S. Transdermal and oral hormone replacement therapy and the risk of stroke: a nested case-control study. BMJ 2010;340:c2519.

[8] Park YW, Zhu S, Palaniappan L, Heshka S, Carnethon MR, Heymsfield SB. 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(4):427-36.

[9] Carr MC. The emergence of the metabolic syndrome with menopause. J Clin Endocrinol Metab 2003;88(6):2404-11.

[10] Sowers M, Zheng H, Tomey K *et al.* Changes in body composition in women over six years at midlife: ovarian and chronological aging. J Clin Endocrinol Metab 2007;92(3):895-901.

[11] Chu MC, Cosper P, Orio F, Carmina E, Lobo RA. Insulin resistance in postmenopausal women with metabolic syndrome and the measurements of adiponectin, leptin, resistin, and ghrelin. Am J Obstet Gynecol 2006; 194(1):100-4.

[12] Behre CJ. Adiponectin, obesity and atherosclerosis. Scand J Clin Lab Invest 2007;67(5):449-58.

[13] Hodis HN, Mack WJ. Postmenopausal hormone therapy in clinical perspective. Menopause 2007;14(5):944-57.

[14] Ferrara A, Karter AJ, Ackerson LM, Liu JY, Selby JV. Hormone replacement therapy is associated with better glycemic control in women with type 2 diabetes: the Northern California Kaiser Permanente Diabetes Registry. Diabetes Care 2001;24(7):1144-50.

[15] Friday KE, Dong C, Fontenot RU. Conjugated equine estrogen improves glycemic control and blood lipoproteins in post-menopausal women with type 2 diabetes. J Clin Endocrinol Metab 2001;86(1):48-52.

[16] Salpeter SR, Walsh JM, Ormiston TM, Greyber E, Buckley NS, Salpeter EE. Meta-analysis: effect of hormone-replacement therapy on components of the metabolic syndrome in postmenopausal women. Diabetes Obes Metab 2006;8(5):538-54.

[17] De Lauzon-Guillain B, Fournier A, Fabre A *et al.* Menopausal hormone therapy and new-onset diabetes in the French Étude Épidémiologique de Femmes de la Mutuelle Générale de l'Éducation Nationale (E3N) cohort. Diabetologia 2009;52(10):2092-100.

[18] Chu MC, Cosper P, Nakhuda GS, Lobo RA. A comparison of oral and transdermal short-term estrogen therapy in postmenopausal women with metabolic syndrome. Fertil Steril 2006;86(6):1669-75.

[19] Lobo RA. Metabolic syndrome after menopause and the role of hormones. Maturitas 2008;60(1):10-8.

[20] Lewandowski KC, Komorowski J, Mikhalidis DP *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(8):3123-30.

[21] Zanger D, Yang BK, Ardans J *et al.* Divergent effects of hormone therapy on serum markers of inflammation in postmenopausal women with coronary artery disease on appropriate medical management. J Am Coll Cardiol 2000;36(6):1797-802.

[22] O'Sullivan AJ, Crampton LJ, Freund J, Ho KK. The route of estrogen replacement therapy confers divergent effects on substrate oxidation and body composition in postmenopausal women. J Clin Invest 1998; 102(5):1035-40.

[23] Ho KK, O'Sullivan AJ, Wolthers T, Leung KC. Metabolic effects of oestrogens: impact of the route of administration. Ann Endocrinol (Paris) 2003;64(2):170-7.

[24] Dos Reis CM, de Melo NR, Meirelles ES, Vezozzo DP, Halpern A. Body composition, visceral fat distribution and fat oxidation in postmenopausal women using oral or transdermal estrogen. Maturitas 2003;46(1):59-68.

[25] Chu MC, Cushman M, Solomon R, Lobo RA. Metabolic syndrome in postmenopausal women: the influence of oral or transdermal estradiol on inflammation and coagulation markers. Am J Obstet Gynecol 2008;199(5):526 e1-7.

[26] Lacut K, Oger E, Le Gal G *et al.* Differential effects of oral and transdermal postmenopausal estrogen replacement therapies on C-reactive protein. Thromb Haemost 2003; 90(1):124-31.

[27] Mueck AO, Genazzani AR, Samsioe G, Vukovic-Wysocki I, Seeger H. Low-dose continuous combinations of hormone therapy and biochemical surrogate markers for vascular tone and inflammation: transdermal *versus* oral application. Menopause 2007;14(6):978-84.

[28] Sumino H, Ichikawa S, Kasama S *et al.* Effect of transdermal hormone replacement therapy on carotid artery wall thickness and levels of vascular inflammatory markers in postmenopausal women. Hypertens Res 2005;28(7):579-84.

[29] Sumino H, Ichikawa S, Kasama S *et al.* Different effects of oral conjugated estrogen and transdermal estradiol on arterial stiffness and vascular inflammatory markers in postmenopausal women. Atherosclerosis 2006; 189(2):436-42.

[30] Kurtz E, Ridker P, Rose L. Oral postmenopausal hormone therapy, C-reactive protein, and cardiovascular outcomes. Menopause 2010;18(1):000-000.

[31] Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S *et al.* Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. Lancet 2004;364(9438):937-52.

[32] Rossouw JE, Anderson GL, Prentice RL *et al.* 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(3):321-33.

[33] Hsia J, Langer RD, Manson JE *et al.* Conjugated equine estrogens and coronary heart disease: the Women's Health Initiative. Arch Intern Med 2006;166(3):357-65.

[34] Manson JE, Allison MA, Rossouw JE *et al.* Estrogen therapy and coronary-artery calcification. N Engl J Med 2007;356(25):2591-602.

[35] Greenland P, Bonow RO, Brundage BH *et al.* ACCF/AHA 2007 clinical expert consensus document on coronary artery calcium scoring by computed tomography in global cardiovascular risk assessment and in evaluation of patients with chest pain: a report of the American College of Cardiology Foundation Clinical Expert Consensus Task Force (ACCF/AHA Writing Committee to Update the 2000 Expert Consensus Document on Electron Beam Computed Tomography) developed in collaboration with the Society of Atherosclerosis Imaging and Prevention and the Society of Cardiovascular Computed Tomography. J Am Coll Cardiol 2007;49(3):378-402.

[36] Kurtz EG, Ridker PM, Rose LM *et al.* Oral postmenopausal hormone therapy, C-reactive protein, and cardiovascular outcomes. Menopause 2010;18(1):23-9.

[37] Flaumenhaft R, Nachtigall M, Lowenstein J, Nachtigall L, Nachtigall R, Nachtigall L. Association of oral but not transdermal estrogen therapy with enhanced platelet reactivity in a subset of postmenopausal women. Menopause 2009;16(2):407-12.

[38] Lokkegaard E, Andreasen AH, Jacobsen RK, Nielsen LH, Agger C, Lidegaard O.

Hormone therapy and risk of myocardial infarction: a national register study. Eur Heart J 2008;29(21):2660-8.

[39] Harman SM, Brinton EA, Cedars M *et al.* KEEPS: the Kronos Early Estrogen Prevention Study. Climacteric 2005;8(1):3-12.

[40] Clarke SC, Kelleher J, Lloyd-Jones H, Slack M, Schofiel PM. A study of hormone replacement therapy in postmenopausal women with ischaemic heart disease: the Papworth HRT atherosclerosis study. BJOG 2002;109(9):1056-62.

[41] Marfella R, Di Filippo C, Portoghese M *et al.* Proteasome activity as a target of hormone replacement therapy-dependent plaque stabilization in postmenopausal women. Hypertension 2008;51(4):1135-41.

[42] Ettinger B. Rationale for use of lower estrogen doses for postmenopausal hormone therapy. Maturitas 2007;57(1):81-4.

[43] Delmas PD, Confavreux E, Garnero P *et al.* A combination of low doses of 17 beta-estradiol and norethisterone acetate prevents bone loss and normalizes bone turnover in postmenopausal women. Osteoporos Int 2000; 11(2):177-87.

[44] Wakatsuki A, Okatani Y, Ikenoue N, Fukaya T. Effect of medroxyprogesterone acetate on vascular inflammatory markers in postmenopausal women receiving estrogen. Circulation 2002;105(12):1436-9.

[45] Allen NE, Tsilidis KK, Key TJ *et al.* Menopausal hormone therapy and risk of endometrial carcinoma among postmenopausal women in the European Prospective Investigation Into Cancer and Nutrition. Am J Epidemiol 2010;172(12):1394-403.

[46] Beresford SA, Weiss NS, Voigt LF, McKnight B. Risk of endometrial cancer in relation to use of oestrogen combined with cyclic progestagen therapy in postmenopausal women. Lancet 1997;349(9050):458-61.

[47] Beral V, Bull D, Reeves G. Endometrial cancer and hormone-replacement therapy in the Million Women Study. Lancet 2005;365(9470): 1543-51.

[48] Pike MC, Peters RK, Cozen W *et al.* Estrogen-progestin replacement therapy and endometrial cancer. J Natl Cancer Inst 1997;89(15):1110-6.

[49] Razavi P, Pike MC, Horn-Ross PL, Templeman C, Bernstein L, Ursin G. Long-term postmenopausal hormone therapy and endometrial cancer. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2010;19(2):475-83.

[50] Doherty JA, Cushing-Haugen KL, Saltzman BS *et al.* Long-term use of postmenopausal estrogen and progestin hormone therapies and the risk of endometrial cancer. Am J Obstet Gynecol 2007;197(2):139 e1-7.

[51] Karageorgi S, Hankinson SE, Kraft P, De Vivo I. Reproductive factors and postmenopausal hormone use in relation to endometrial cancer risk in the Nurses' Health Study cohort 1976-2004. Int J Cancer 2010;126(1):208-16.

[52] Lacey JV Jr, Leitzmann MF, Chang SC *et al.* Endometrial cancer and menopausal hormone therapy in the National Institutes of Health-AARP Diet and Health Study cohort. Cancer 2007;109(7):1303-11.

[53] Persson I, Adami HO, Bergkvist L *et al.* Risk of endometrial cancer after treatment with oestrogens alone or in conjunction with progestogens: results of a prospective study. BMJ 1989;298(6667):147-51.

[54] Chabbert-Buffet N *et al.* Prevention of estrogen-induced endometrial cancer in postmenopausal women: micronized progesterone may not be as potent as other progestagens, Congrès de l'EMAS, Londres, mai 2009.

[55] Effects of hormone replacement therapy on endometrial histology in postmenopausal women. The Postmenopausal Estrogen/Progestin Interventions (PEPI) Trial. The Writing Group for the PEPI Trial. JAMA 1996;275(5):370-5.

[56] Breast cancer and hormone replacement therapy: collaborative reanalysis of data from 51 epidemiological studies of 52,705 women with breast cancer and 108,411 women without breast cancer. Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. Lancet 1997;350 (9084):1047-59.

[57] Chlebowski RT, Hendrix SL, Langer RD *et al.* Influence of estrogen plus progestin on breast cancer and mammography in healthy postmenopausal women: the Women's Health Initiative Randomized Trial. JAMA 2003; 289(24):3243-53.

[58] Greendale GA, Reboussin BA, Slone S, Wasilauskas C, Pike MC, Ursin G. Postmenopausal hormone therapy and change in mammographic density. J Natl Cancer Inst 2003;95(1):30-7.

[59] Litherland JC. The effects of HRT on screening mammography. Breast 2000;9(3):117-24.

[60] Chlebowski RT, Anderson G, Pettinger M *et al*. Estrogen plus progestin and breast cancer detection by means of mammography and breast biopsy. Arch Intern Med 2008; 168(4):370-7; quiz 345.

[61] Chlebowski RT, Anderson G, Manson JE *et al*. Estrogen alone in postmenopausal women and breast cancer detection by means of mammography and breast biopsy. J Clin Oncol 2010;28(16):2690-7.

[62] Bakken K, Fournier A, Lund E *et al*. Menopausal hormone therapy and breast cancer risk: impact of different treatments. The European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. Int J Cancer 2010;128(1):144-56.

[63] Stahlberg C, Pedersen AT, Lynge E *et al*. Increased risk of breast cancer following different regimens of hormone replacement therapy frequently used in Europe. Int J Cancer 2004;109(5):721-7.

[64] Tjonneland A, Christensen J, Thomsen BL *et al*. Hormone replacement therapy in relation to breast carcinoma incidence rate ratios: a prospective Danish cohort study. Cancer 2004;100(11):2328-37.

[65] Brinton LA, Richesson D, Leitzmann MF *et al*. Menopausal hormone therapy and breast cancer risk in the NIH-AARP Diet and Health Study Cohort. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2008;17(11):3150-60.

[66] Weiss LK, Burkman RT, Cushing-Haugen KL *et al*. Hormone replacement therapy regimens and breast cancer risk (1). Obstet Gynecol 2002;100(6):1148-58.

[67] Lee SA, Ross RK, Pike MC. An overview of menopausal oestrogen-progestin hormone therapy and breast cancer risk. Br J Cancer 2005;92(11):2049-58.

[68] Foidart JM, Desreux J, Pintiaux A, Gompel A. Hormone therapy and breast cancer risk. Climacteric 2007;10 Suppl 2:54-61.

[69] Dinger JC, Heinemann LA, Mohner S, Thai do M, Assmann A. Breast cancer risk associated with different HRT formulations: a register-based case-control study. BMC Womens Health 2006;6:13.

[70] Lyytinen H, Pukkala E, Ylikorkala O. Breast cancer risk in postmenopausal women using estradiol-progestogen therapy. Obstet Gynecol 2009;113(1):65-73.

[71] Desreux J, Kebers F, Noel A *et al*. Effects of a progestogen on normal human breast epithelial cell apoptosis *in vitro* and *in vivo*. Breast 2003;12(2):142-9.

[72] Fournier A, Berrino F, Clavel-Chapelon F. Unequal risks for breast cancer associated with different hormone replacement therapies: results from the E3N cohort study. Breast Cancer Res Treat 2008;107(1):103-11.

[73] Wood CE, Register TC, Lees CJ, Chen H, Kimrey S, Cline JM. Effects of estradiol with micronized progesterone or medroxyprogesterone acetate on risk markers for breast cancer in postmenopausal monkeys. Breast Cancer Res Treat 2007;101(2):125-34.

[74] Murkes D, Conner P, Leifland K *et al*. Effects of percutaneous estradiol-oral progesterone *versus* oral conjugated equine estrogens-medroxyprogesterone acetate on breast cell proliferation and bcl-2 protein in healthy women. Fertil Steril 95(3):1188-91.

[75] Anderson GL, Limacher M, Assaf AR *et al*. Effects of conjugated equine estrogen in postmenopausal women with hysterectomy: the Women's Health Initiative randomized controlled trial. JAMA 2004;291(14):1701-12.

[76] Beral V. Breast cancer and hormone-replacement therapy in the Million Women Study. Lancet 2003;362(9382):419-27.

[77] Chen WY, Manson JE, Hankinson SE *et al*. Unopposed estrogen therapy and the risk of invasive breast cancer. Arch Intern Med 2006; 166(9):1027-32.

[78] Stefanick ML, Anderson GL, Margolis KL *et al*. Effects of conjugated equine estrogens on breast cancer and mammography screening in postmenopausal women with hysterectomy. JAMA 2006;295(14):1647-57.

[79] LaCroix AZ, Chlebowski RT, Manson JE *et al*. Health outcomes after stopping conjugated equine estrogens among postmenopausal women with prior hysterectomy: a randomized controlled trial. JAMA 2011 Apr 6;305(13):1305-14.

[80] Berrodin TJ, Chang KC, Komm BS, Freedman LP, Nagpal S. Differential biochemical and cellular actions of Premarin estrogens: distinct pharmacology of bazedoxifene-conjugated estrogens combination. Mol Endocrinol 2009;23(1):74-85.

[81] Chlebowski RT, Anderson GL. The influence of time from menopause and mammography on hormone therapy-related breast cancer risk assessment. J Natl Cancer Inst 2011;103(4):284-5.

[82] Beral V, Reeves G, Bull D, Green J. Breast cancer risk in relation to the interval between menopause and starting hormone therapy. J Natl Cancer Inst 2011;103(4):296-305.

[83] Fournier A, Mesrine S, Boutron-Ruault MC, Clavel-Chapelon F. Estrogen-progestagen menopausal hormone therapy and breast cancer: does delay from menopause onset to treatment initiation influence risks? J Clin Oncol 2009; 27(31):5138-43.

[84] Santen RJ, Lobenhofer EK, Afshari CA, Bao Y, Song RX. Adaptation of estrogen-regulated genes in long-term estradiol deprived MCF-7 breast cancer cells. Breast Cancer Res Treat 2005;94(3):213-23.

[85] Jeng MH, Shupnik MA, Bender TP *et al.* Estrogen receptor expression and function in long-term estrogen-deprived human breast cancer cells. Endocrinology 1998;139(10):4164-74.