

Les traitements hormonaux de la ménopause : passé, présent et avenir

Hormonal therapies in the menopause: past, present, and future

Mots clés : THS, Prolifération cellulaire mammaire, Hormono-sensibilité mammaire.

Keywords : HRT, Breast cell proliferation, Breast endocrine sensitivity.

J.M. Foidart ⁽¹⁾, J. Desreux ⁽¹⁾

Le sein est un organe essentiel de la reproduction et du bien-être psycho-sexuel. Contrairement à l'utérus, le sein est investi d'une valeur symbolique essentielle associée à l'image de la féminité, du charme et de la sexualité.

Il est un organe cible des stéroïdes exogènes ou endogènes. Il est également le site du cancer le plus fréquent chez la femme qui atteint des prévalences presque épidémiques dans le monde occidental. En dépit de nombreuses études, nos connaissances de base sur la régulation du sein normal dans des conditions physiologiques, ainsi qu'au cours des traitements hormonaux, restent remarquablement faibles en ce début du troisième millénaire.

L'augmentation de longévité augmente le taux de la population ménopausée qui représente 20 % de la population totale.

Jusqu'à un passé récent, le pourcentage de femmes ménopausées bénéficiant d'un traitement hormonal substitutif (THS) a augmenté considérablement. Les effets de ce traitement sur l'amélioration des symptômes de carence estrogénique sont bien établis [1]. La prévention de l'ostéoporose, la diminution du risque de fracture et celle de l'incidence des cancers du côlon sous THS ont été également décrites antérieurement [2, 3].

Des études observationnelles et expérimentales ont longtemps suggéré une diminution du risque cardiovasculaire et de la démence [4].

1. Service de gynécologie obstétrique sénologie, université de Liège, hôpital de la Citadelle, 1, boulevard du 12^e de Ligne, B-4000 Liège, Belgique.

Toutefois, ces dernières années, les résultats ont été largement battus en brèche depuis que des essais prospectifs randomisés à large échelle n'ont pas permis de confirmer l'effet protecteur à long terme du THS [5, 6].

L'étude WHI [5] a entraîné une perception négative du rapport "risques/bénéfices" du THS. Les prescriptions de CEE-MPA ont diminué de 50 % au cours de l'année qui a suivi son arrêt prématuré [7, 8].

Le THS fait donc l'objet de vives discussions et a suscité de grandes craintes dans sa sécurité à long terme [4, 9-15]. Des traitements alternatifs à l'aide de bisphosphonates, de SERMs (Selective Estrogen Receptor Modulators), d'inhibiteurs sélectifs de la récupération de la sérotonine (SSRI), des phytoestrogènes et des régulateurs sélectifs de l'activité tissulaire estrogénique (STEAR) ont été proposés comme substituts du THS estroprogestatif classique [16].

Le cancer du sein est la plus fréquente des tumeurs malignes du monde occidental puisqu'il survient chez environ 10 % des femmes [17]. Les antécédents personnels, gynécologiques et obstétricaux, l'âge de la puberté et de la ménopause, l'âge de la première grossesse, le nombre de grossesses, l'allaitement maternel et le profil d'expression de stéroïdes sexuels endogènes constituent d'importants facteurs de risque dans l'étiologie du cancer mammaire. Par exemple, la ménopause prématurée ou la castration diminuent considérablement le risque de cancer mammaire [18]. L'impact des traitements hormonaux contraceptifs et substitutifs sur le sein normal de la femme saine est incomplètement compris et demeure le sujet de vives controverses.

Dans un pays tel que la Belgique, on estime qu'environ deux millions de personnes sont traitées chaque jour par une combinaison d'estrogènes et de progestatifs pour des raisons de contraception, de troubles ménométrorragiques, ou pour la suppression des symptômes de carence oestrogénique postménopausique. C'est la raison pour laquelle, la sécurité mammaire de ces préparations hormonales demeure un sujet d'une grande importance pour la santé féminine.

Alors que nos connaissances des stéroïdes sexuels sur les autres organes cibles tels que l'endomètre, le système cardiovasculaire sont considérables [19], notre compréhension du mode d'action des hormones sur le sein demeure largement controversée.

Le THS n'est pas un concept uniforme

La pratique clinique offre une grande diversité de préparations hormonales, de doses et de régimes de traitement, administrés par voies orale, transdermique, percutanée, nasale, sous forme d'implants ou par voie vaginale.

Les estrogènes combinés conjugués équins, l'estradiol, l'estriol et, dans une très faible proportion, l'éthinylestradiol sont les estrogènes les plus utilisés. La progestérone naturelle et les progestatifs de synthèse sont inclus dans le THS afin de contrebalancer l'impact des estrogènes sur l'endomètre. Les progestatifs peuvent exercer également un effet agoniste supplémentaire à celui des estrogènes sur la diminution des bouffées de chaleur, sur la réduction de la sudation et sur le maintien de la densité osseuse. Mais ils peuvent également entraîner des effets secondaires indésirables : sensibilité mammaire, mastalgies, troubles de l'humeur...

Outre la progestérone naturelle, de nombreux progestatifs de synthèse dérivés soit la

19-norprogestérone, la 17 β -hydroxyprogestérone ou la 19-nortestostérone sont disponibles. Ces différents composés présentent de larges différences d'absorption, de métabolisme, de liaison aux protéines sériques et d'effets biologiques médiés par leur liaison aux récepteurs de la progestérone, les PR-A et PR-B [20].

L'impact de la progestérone et des progestatifs sur la prolifération

L'école de Mauvais-Jarvis a longtemps suggéré que la régulation hormonale mammaire était comparable à celle de l'endomètre où les estrogènes stimulaient la prolifération et augmentaient le risque de cancer tandis que les progestatifs contrecarraient ces effets.

L'addition d'un progestatif à des cellules mammaires, cultivées *in vitro* dans un environnement estrogénique, réduit considérablement leur prolifération [21]. Toutefois, les études *in vivo* du sein normal démontrent que la prolifération épithéliale mammaire est maximale au cours de la phase lutéale du cycle menstruel sous l'effet combiné de l'estradiol et de la progestérone [22, 23]. De même, *Söderqvist* et al. ont démontré que la prolifération mammaire des femmes jeunes est maximale au cours de la phase lutéale et corrélée au taux de progestérone sérique [24]. Chez les femmes jeunes sous contraceptifs combinés continus, la prolifération mammaire est étroitement corrélée aux taux circulants du progestatif "lévonorgestrel" [25].

De même, les données expérimentales chez le macaque ayant subi une castration chirurgicale démontrent que la réponse proliférative mammaire est maximale sous une combinaison d'estrogènes conjugués équins et d'acétate de médroxyprogestérone, et nettement supérieure à celle d'un traitement par estrogène seul [26].

La stimulation de l'activité mitotique au cours de la phase lutéale du cycle menstruel et l'augmentation de la prolifération sous différentes combinaisons estroprogestatives, administrées après la ménopause, impliquent clairement une action proliférative des progestatifs. Ces résultats démontrent donc que le sein ne présente pas les mêmes stimuli prolifératifs que l'endomètre.

Nous avons préalablement démontré, cependant, que l'administration percutanée d'estradiol sur le sein entraîne une stimulation de la prolifération épithéliale mammaire nettement supérieure à celle de la progestérone. Lorsque cette dernière est administrée pendant une période limitée de 15 jours, elle réduit considérablement le taux de prolifération induit par l'estradiol [27].

Les études de *Clarke* [28-31] et *Anderson* [32] suggèrent également que l'estradiol est le stéroïde mitogène essentiel de l'épithélium mammaire, tandis que la progestérone n'a que peu ou pas d'effets. Ces auteurs ont greffé du tissu mammaire sain de femmes jeunes chez les souris nues athymiques. Les animaux ont été traités par différentes combinaisons d'estradiol et de progestérone. Seul l'estradiol entraînait une stimulation de la prolifération mammaire du sein préménopausique, mais seulement pour des taux comparables à ceux observés au cours de la phase lutéale du cycle menstruel.

De faibles taux d'estradiol étaient cependant capables d'induire l'expression du récepteur de la progestérone.

Ces auteurs ont, de plus, montré que l'estradiol influence indirectement la prolifération mammaire en agissant sur les cellules épithéliales porteuses de récepteurs à l'estradiol, qui ne se divisent pas elles-mêmes, mais qui contrôlent l'activité mitotique des cellules adjacentes dépourvues de récepteurs à l'estradiol.

Cette régulation paracrine ou juxtacrine entre des cellules ER positives et négatives implique l'expression de facteurs de croissance transmettant le signal mitogène au sein de la population épithéliale mammaire. En particulier, les études à l'aide d'inhibiteurs des tyrosine-kinases démontrent que l'estradiol agit essentiellement par l'intermédiaire des récepteurs de type EGF.

Ces différences apparentes entre les résultats obtenus *in vitro* et *in vivo* chez l'animal ou chez la femme pourraient résulter partiellement du fait que les cultures des cellules mammaires sont dépourvues de cellules graisseuses et de cellules du stroma qui interagissent considérablement *in vivo* avec les cellules épithéliales mammaires [28, 32]. En effet, les travaux de Clarke et al. suggèrent une interaction entre les cellules épithéliales par l'intermédiaire de l'EGF ou de l'amphiréguline [29-31]. Ils ont, en revanche, montré que l'estradiol peut augmenter l'expression du récepteur de l'IGF-1, ce qui permettrait d'accroître la sensibilité du tissu épithélial mammaire à l'IGF-1 produit par les cellules stromales mammaires.

L'hypothèse actuelle est donc que le sein de la femme préménopausée, non enceinte et n'allaitant pas, contient des cellules épithéliales riches en récepteurs aux estrogènes de type α agissant comme des senseurs permettant de contrôler la division des cellules adjacentes par la production juxtacrine ou paracrine de facteurs de croissance exerçant un effet positif ou négatif selon l'environnement hormonal prédominant.

De plus, l'effet des progestatifs sur le tissu mammaire est complexe et incomplètement compris. Il peut dépendre des variations locales des taux d'estrogènes. En effet, les progestatifs réduisent les taux de récepteurs ER- α au cours de l'hormonothérapie substitutive [33, 34], ainsi qu'au cours du cycle menstruel normal [35].

Le sein postménopausique

Le tissu mammaire postménopausique se comporte de manière différente du tissu mammaire préménopausique. Son activité proliférative, déterminée par le pourcentage de cellules exprimant l'antigène KI-67, est très faible chez les femmes postménopausées ne prenant aucun traitement hormonal substitutif [36, 37].

Chez les femmes ménopausées recevant une estrogénothérapie isolée, l'activité proliférative n'est que faiblement accrue et de manière non significative. Cela pourrait expliquer les résultats apparemment paradoxaux de l'étude WHI *estrogen only* qui démontre l'absence d'impact des estrogènes sur le cancer du sein [38].

Contrairement à ce que l'on observe dans le tissu mammaire préménopausique, l'activité proliférative et épithéliale est considérablement stimulée par les combinaisons estroprogestatives des THS. Les récepteurs A et B de la progestérone de ces patientes sont considéra-

ment accrus dans le tissu mammaire sous l'influence des estrogènes seuls ou du THS combiné.

En résumé, après la ménopause, l'estradiol induit encore l'expression de récepteurs à la progestérone, mais c'est maintenant la progestérone qui semble être le mitogène essentiel.

Ces données pourraient expliquer les observations cliniques qui démontrent une augmentation modérée du risque de cancer mammaire chez les femmes bénéficiant d'un THS continu.

Les études de *Sutherland* et al. [39] pourraient expliquer ces différences de prolifération entre le tissu mammaire pré- et postménopausique. Le traitement à la progestérone accélère transitoirement la prolifération des cellules qui ont franchi le point critique du cycle cellulaire entre la phase G1 et la phase S lorsqu'elles sont mises en contact avec ce stéroïde.

Toutefois, à plus long terme, la progestérone entraîne une inhibition de la croissance cellulaire et un arrêt au cours de la phase G1. Il semble que dans le sein jeune, cet effet de la progestérone ne se manifeste pas et que l'estradiol soit le mitogène essentiel.

En l'absence d'imprégnation estrogénique importante après la ménopause, l'effet de la progestérone pourrait devenir plus important et contrôler essentiellement la prolifération cellulaire [32, 40].

L'apoptose

L'apoptose ou mort cellulaire, processus complexe d'exécution d'un programme génétique aboutissant à l'autodestruction cellulaire, est également étroitement modulée par l'environnement endocrinien. Au cours du cycle menstruel normal chez la femme jeune, un taux maximal d'apoptose s'observe 2 à 3 jours après le pic de prolifération maximal de la phase lutéale [41]. Au contraire, au cours de la phase proliférative du cycle menstruel sous estrogène seul, l'apoptose mammaire est minimale.

Nous avons préalablement suggéré que l'arrêt du progestatif initie la voie apoptotique [27]. Ce concept est supporté par des données épidémiologiques démontrant une augmentation du risque de cancer mammaire sous traitement combiné continu, tandis que les traitements séquentiels ou estrogéniques seuls entraînent un risque mammaire plus faible [42]. Toutefois, le groupe de *Gompel* suggère que les progestatifs réduisent le taux de bcl2 et favorisent ainsi l'apoptose [43].

Les récepteurs des stéroïdes

Les estrogènes et la progestérone exercent leurs effets par l'activation de récepteurs spécifiques et de récepteurs membranaires (actions non génomiques membranaires) [44].

De nombreux travaux ont été consacrés au mode d'action de ces récepteurs et aux autres protéines coactivatrices et co-inhibitrices contribuant à moduler la réponse à l'estradiol et à la progestérone.

Selon le modèle classique de fonctionnement des récepteurs hormonaux stéroïdiens nucléaires, la liaison de l'hormone au récepteur dissocie de ce dernier des complexes qu'il

forme avec des protéines de choc thermique. Deux complexes ligands récepteurs forment un dimère qui pénètre ou demeure au sein du noyau et interagit avec les protéines corégulatrices pour entraîner une modification de l'expression génique.

Toutefois, la liaison des hormones stéroïdiennes – en particulier de la progestérone – à des récepteurs cytoplasmiques ou membranaires entraîne également une activation de plusieurs protéines kinases. Celles-ci entraînent une phosphorylation des récepteurs hormonaux stéroïdiens.

Il existe donc un véritable dialogue entre les récepteurs aux hormones stéroïdiennes et les facteurs de croissance peptidiques.

Dans le cas des récepteurs de la progestérone, les protéines kinases stimulent la phosphorylation du récepteur de type Aet entraînent de nouvelles propriétés du récepteur. Ainsi les protéines kinases intracellulaires activées sous l'influence des facteurs de croissance peptidiques apparaissent aujourd'hui comme des régulateurs essentiels de l'action et de l'efficacité des récepteurs stéroïdiens. Un véritable dialogue semble donc s'établir entre la signalisation initiée par les facteurs de croissance au sein des cellules et les récepteurs stéroïdiens hormonaux. Ces données récentes pourraient expliquer comment divers groupes de gènes sont régulés de manière coordonnée par des stimuli mitogènes dans les tissus hormonosensibles. Ce niveau accru de complexité pourrait contribuer à expliquer les différences de comportement biologique aberrant du tissu épithélial mammaire jeune ou chez la femme ménopausée [45].

Le métabolisme local des estrogènes

La biosynthèse tissulaire locale des estrogènes mammaires pourrait jouer un rôle dans le contrôle prolifératif du sein postménopausique. Il est donc probable que l'administration systématique d'estrogènes ait un impact tissulaire moindre parce que ce dernier est lié, chez la femme ménopausée, au métabolisme local des estrogènes. Chez la femme jeune, les taux tissulaires sont étroitement associés aux taux plasmatiques d'estrogènes. En revanche, chez la femme ménopausée, les taux plasmatiques ne sont pas corrélés au niveau tissulaire en raison d'une biosynthèse locale déterminée par les teneurs tissulaires locales en aromatasase et en sulfatase. La voie de l'aromatase transforme les androgènes en estrogènes tandis que la sulfatase convertit l'estrone sulfate en estrone secondairement réduite par la 17 β -hydroxystéroïde déhydrogénase de type I. Ainsi le tissu mammaire possède l'arsenal enzymatique indispensable à la production locale d'estradiol [46, 47].

Les données cliniques

Les nombreuses études fondamentales ayant évalué les divers acteurs cellulaires et moléculaires du contrôle endocrinien du sein démontrent la complexité et expliquent le caractère difficilement prédictif de l'exposition mammaire aux stéroïdes sexuels. La réponse dépend de l'environnement endocrinien local, de l'arsenal enzymatique disponible, de la modulation des récepteurs, des taux de prolifération, des régulations intercellulaires juxtacrines et paracrines impliquant l'action non seulement des stéroïdes, mais également des facteurs de croissance peptidiques, interépithéliaux ou impliquant des interactions entre épithélium et stroma.

Au cours des trois dernières années, les médias ont monté en épingle un certain nombre d'articles épidémiologiques qui suggèrent que l'hormonothérapie substitutive, en particulier estroprogestative, est responsable de l'initiation des cancers mammaires chez la femme ménopausée. Toutefois, l'étude des mutations biologiques, essentielles à l'induction d'un cancer mammaire, suggèrent que l'augmentation du diagnostic chez les patientes traitées est liée à la promotion d'un cancer préalablement existant, mais non diagnostiqué, plutôt que la conséquence de nouvelles mutations initiées par les hormones sexuelles. En dépit de la démonstration du pouvoir oncogénique théorique des stéroïdes sexuels, il apparaît qu'en pratique, les hormones sont mitogènes, mais pas oncogènes [48].

En pratique clinique, différents régimes d'administration estrogénique ou différentes combinaisons estroprogestatives sont utilisés. En période périménopausique, on considère que les progestatifs doivent être administrés de manière cyclique ou séquentielle afin d'éviter les saignements irréguliers.

Après la ménopause, lorsque la production hormonale endogène s'est stabilisée à des taux très faibles, un traitement combiné continu est souvent préféré en raison de l'aménorrhée induite par l'atrophie endométriale. Ainsi l'estrogénothérapie isolée entraîne une augmentation du risque de cancer utérin, largement prévenue par une administration cyclique de progestatifs 12 à 14 jours par mois [49].

L'addition continue des progestatifs entraîne une réduction du risque de cancer endométrial, même en comparaison avec les femmes non traitées par un THS.

Ainsi, les trois régimes d'administration du THS (estrogènes seuls, combinaison cyclique ou continue avec un progestatif) entraînent des différences marquées d'effet sur l'endomètre. La controverse demeure quant à savoir si des différences comparables s'observent sur le sein. Au cours des dernières années, les études épidémiologiques prospectives et observationnelles ont suggéré que les traitements estrogéniques, estroprogestatifs combinés et continus entraînent un risque supérieur de cancer mammaire à ceux des estrogènes seuls [38, 42, 50] et supérieur au traitement séquentiel [51].

Les cellules souches

Il apparaît, en revanche, que les seins et l'endomètre présentent des différences tissulaires essentielles en termes de lésions pré-malignes.

Les hyperplasies épithéliales bénignes, complexes et atypiques endométriales sont clairement estrogénodépendantes, tandis que les lésions pré-malignes d'hyperplasie épithéliale atypique, de même que les hyperplasies ductales atypiques et les carcinomes ductaux sont plus difficiles à détecter bien qu'ils soient présents chez une proportion relativement élevée de femmes ménopausées. Ces lésions représentent les premiers stades de perte d'homéostasie. L'hyperplasie de type habituelle est caractérisée par une activité proliférative intense et une diminution du taux d'apoptose aboutissant à une accumulation de cellules épithéliales qui deviennent progressivement atypiques. Les cellules épithéliales hyperplasiques de type habituel expriment des taux accrus de récepteurs aux estrogènes de type α et l'expression de ces récepteurs s'accroît avec l'apparition des lésions atypiques [52].

Alors qu'il y a une dissociation quasi complète entre l'identité des cellules qui expriment des récepteurs aux estrogènes et les cellules qui prolifèrent dans le sein normal, ces deux paramètres sont étroitement associés dans les lésions pré malignes [53]. Ainsi, le sein devient progressivement plus désorganisé et ce sont les mêmes cellules qui expriment les récepteurs aux stéroïdes et prolifèrent.

Le risque de cancer mammaire est étroitement coordonné autour d'associations entre les récepteurs estrogéniques et la prolifération cellulaire. Il semblerait donc que ces cellules modifiées soient plus sensibles à l'environnement estrogénique ce qui leur confère une capacité proliférante supérieure.

Ces cellules capables d'exprimer à la fois les récepteurs stéroïdiens et peptidiques et de se diviser semblent très différentes des cellules épithéliales mammaires différenciées, prélevées tout au long des épisodes de la vie normale de reproduction féminine. Selon une théorie récente [54], il s'agirait de cellules souches, non progénitrices, capables au cours de mutations de garder des propriétés de cellules souches, de cellules progénitrices ou de cellules différenciées et de donner lieu à des tumeurs largement indépendantes de la régulation para- péri- et intraépithéliale.

En d'autres termes, selon cette théorie récente, le cancer mammaire serait la conséquence d'une prolifération anarchique des cellules souches et progénitrices de la glande mammaire ayant subi des transformations oncogéniques sous l'influence de mutagènes physiques ou chimiques. Ces cellules souches ou progénitrices pourraient avoir une régulation totalement aberrante et très différente des cellules mammaires normales différenciées. En quelque sorte, l'étude clinique épidémiologique évaluerait essentiellement l'impact de l'hormonothérapie sur le comportement de ces cellules souches ou progénitrices, tandis que les données de la biologie cellulaire et moléculaire auraient essentiellement évalué les populations cellulaires et épithéliales les plus abondantes du sein, c'est-à-dire les cellules largement différenciées.

L'avenir


Outre le choix et l'évaluation de nouvelles options thérapeutiques (SERM, mésoprogestines, combinaisons de SERM et œstrogène, d'estrogène et de mésoprogestines, faibles doses d'estrogènes seuls, mini stérilets libérant de faibles doses de lévonorgestrel associés à une estrogénothérapie...), il apparaît que l'avenir du THS est lié à la remise en question des données de l'étude WHI. Des essais tels que *Keeps* ambitionnent de réévaluer la sécurité artérielle de l'estradiol, tandis que l'étude *LIBERATE* évalue le rapport "risques/bénéfices" de la tibolone chez des patientes à haut risque de récives.

Conclusion

Les données biologiques, épidémiologiques, cliniques ainsi que les acquis récents de la biologie moléculaire et cellulaire démontrent toute la complexité de la régulation hormonale mammaire. On ne peut admettre que les risques de cancer mammaire ne soient dépendants que de la prolifération des cellules épithéliales plus ou moins différenciées. Notre incapacité

actuelle à prédire le comportement prolifératif et apoptotique des stéroïdes démontre clairement que ceux-ci ont des actions multiples complexes et régulées à de nombreux niveaux pouvant entraîner des effets apparemment paradoxaux selon les types cellulaires et l'environnement endocrinien.

L'épidémiologie est un outil prodigieusement utile à l'évaluation de l'impact de traitements médicaux sur les populations. La prescription à une patiente d'un THS repose sur les considérations scientifiques épidémiologiques, mais doit également tenir compte du contexte individuel et des facteurs de risque mammaires, de même que de la symptomatologie de déprivation estrogénique, de l'état cardiovasculaire, artériel et veineux. En d'autres termes, le traitement doit être individualisé. Si l'épidémiologie s'adresse à la population, le THS adapté aux besoins spécifiques de chaque patiente garde sa légitimité. Il demeure une potentialité thérapeutique de prévention de l'ostéoporose, de traitement des signes de carences estrogéniques et peut-être de prévention des risques cardiovasculaires. Il est alors essentiel de l'administrer à des femmes récemment ménopausées et dont le bilan de santé préalable n'aura pas démontré de facteurs de risque mammaires ou vasculaires constituant des contre-indications à une hormonothérapie judicieuse, individualisée et adaptée.

Une analyse systématique de la littérature scientifique des 35 dernières années sur les THS a été récemment publiée [55]. Cette méta-analyse, qui regroupe 120 000 années-patient au sein de 30 études randomisées, confirme clairement ce dont la majorité des praticiens européens n'a jamais douté : les traitements hormonaux de substitution permettent effectivement de réduire la mortalité générale de manière significative, mais, et c'est cela qui est important, seulement lorsqu'ils sont administrés à temps, soit quand ces traitements sont entamés au moment de la transition ménopausique, et non quand ils sont donnés à des patientes ménopausées depuis plus de dix ans en moyenne, comme c'était le cas dans l'étude WHI. Les auteurs démontrent ainsi qu'un THS commencé chez une patiente ménopausée de moins de 60 ans permet de réduire la mortalité générale de 39 %. Cette diminution importante provient notamment de la réduction de 30 % du risque de décès par cancer ainsi que de la réduction de 32 % du risque de décès par accident cardiovasculaire. 

Références bibliographiques

- [1] Barrett-Connor E. Hormone replacement therapy. *Br Med J* 1998;54:105-12.
- [2] Hebert-Croteau N. A meta-analysis of hormone replacement therapy and colon cancer in women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1998;7:653-59.
- [3] Grodstein F, Newcomb PA, Stampfer MJ. Postmenopausal hormone therapy and the risk of colorectal cancer: a review and meta-analysis. *Am J Med* 1999;106:574-82.
- [4] Grady D, Rubin SM, Petitti DB et al. Hormone therapy to prevent disease and prolong life in postmenopausal women. *Ann Intern Med* 1992;117:1016-37.
- [5] 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;288:321-33.
- [6] Shumaker SA, Legault C, Rapp SR et al. Estrogen plus progestin and the incidence of dementia and mild cognitive impairment in postmenopausal women: the Women's Health Initiative Memory Study: a randomized controlled trial. *JAMA* 2003;289:2651-62.

- [7] Haas JS, Kaplan CP, Gerstenberger Ep et al. Changes in the use of postmenopausal hormone therapy after the publication of clinical trial results. *Ann Intern Med* 2004;140:184-8.
- [8] Hersh AL, Stefanick ML, Stafford RS. National use of postmenopausal hormone therapy: annual trends and response to recent evidence. *JAMA* 2004;291:47-53.
- [9] Beral V. Breast cancer and hormone-replacement therapy in the Million Women Study. *Lancet* 2003;362:419-27.
- [10] 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;289:3243-53.
- [11] Grodstein F, Clarkson TB, Manson JE. Understanding the divergent data on postmenopausal hormone therapy. *N Engl J Med* 2003;348:645-50.
- [12] Hodis HN, Mack WJ, Lobo R. What is the cardioprotective role of hormone replacement therapy? *Curr Atheroscler Rep* 2003;5:56-66.
- [13] Kenemans P, Bosman A. Breast cancer and post-menopausal hormone therapy. *Breast Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2003;17:123-37.
- [14] Speroff L. The Million Women Study and breast cancer. *Maturitas* 2003;46:1-6.
- [15] Strickler RC. Women's Health Initiative results: a glass more empty than full. *Fertil Steril* 2003;80:488-90.
- [16] Riggs BJ, Hartmann LC. Selective estrogen-receptor modulators – mechanisms of action and application to clinical practice. *N Engl J Med* 2003;348:618-29.
- [17] National Board of Health and Welfare. Cancer incidence in Sweden. In *The Cancer Registry*. www.sos.se 2002.
- [18] Spicer DV, Pike MC. Breast cancer prevention through modulation of endogenous hormones. *Breast Cancer Res Treat* 1993;28:179-93.
- [19] Gruber CJ, Tschugguel W, Schneeberger C et al. Production and actions of estrogens. *N Engl J Med* 2002;346:340-52.
- [20] Schindler AE, Campagnoli C, Druckmann R et al. Classification and pharmacology of progestins. *Maturitas* 2003;46, Suppl 1: S7-S16
- [21] Gompel A, Melamed MR, Darzynkiewicz Z. Analysis of apoptosis by flow cytometry. *Methods Mol Biol* 1998;91:217-38.
- [22] Longacre TA, Bartow SA. A correlative morphologic study of human breast and endometrium in the menstrual cycle. *Am J Surg Pathol* 1986;10:382-93.
- [23] Ferguson DJ, Anderson TJ. Morphological evaluation of cell turnover in relation to the menstrual cycle in the "resting" human breast. *Br J Cancer* 1981;44:177-81.
- [24] Söderqvist G, Isaksson E, von Shoultz B et al. Proliferation of breast epithelial cells in healthy women during the menstrual cycle. *Am J Obstet Gynecol* 1997;176:123-28.
- [25] Isaksson E, von Shoultz E, Odland Vet al. Effects of oral contraceptives on breast epithelial proliferation. *Breast Cancer Res Treat* 2001;65:163-9.
- [26] Cline JM, Söderqvist G, von Shoultz E et al. Effects of an hormone replacement therapy on the mammary gland of surgically postmenopausal cynomolgus macaques. *Am J Obstet Gynecol* 1996;174:93-100.
- [27] Foidart JM, Colin C, Denoo X et al. Estradiol and progesterone regulate the proliferation of human breast epithelial cells. *Fertil Steril* 1998;69:963-69.
- [28] Clarke RB. Human breast cell proliferation and its relationship to steroid receptor expression. *Climateric* 2004;7:129-37.
- [29] Clarke RB, Howell A, Anderson E. Estrogen sensitivity of normal human breast tissue in vivo and implanted into athymic nude mice: analysis of the relationship between estrogen-induced proliferation and progesterone receptor expression. *Breast Cancer Res Treat* 1997;45:121-33.
- [30] Clarke RB, Howell A, Anderson E. Type I insulin-like growth factor receptor gene expression in normal human breast tissue treated with oestrogen and progesterone. *Br J Cancer* 1997;75:251-7.
- [31] Clarke RB, Howell A, Potten CS, Anderson E. Dissociation between steroid receptor expression and cell proliferation in the human breast. *Cancer Res* 1997;57:4987-91.
- [32] Anderson E. Cellular homeostasis and the breast. *Maturitas* 2004;48:1-5.
- [33] Battersby S, Robertson BJ, Anderson TJ et al. Influence of menstrual cycle, parity and oral contraceptive use on steroid hormone receptors in normal breast. *Br J Cancer* 1992;65:601-7.
- [34] Isaksson E, Sahlin L, Söderqvist G et al. Expression of sex-steroid receptors and IGF-1 mRNA in breast tissue-effects of hormonal treatment. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1999;70: 257-62.

- [35] Söderqvist G, von Schoultz B, Tani E et al. Estrogen and progesterone receptor content in breast epithelial cells from healthy women during the menstrual cycle. *Am J Obstet Gynecol* 1993;168:874-9.
- [36] Hofseth LJ, Raafat AM, Osuch JR, Pathak Docteur, Slomski CA, Haslam SZ. Hormone replacement therapy with estrogen or estrogen plus medroxyprogesterone acetate is associated with increased epithelial proliferation in the normal postmenopausal breast. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:4559-65.
- [37] Hargreaves DF, Knox F, Swindell R, Potten CS, Bundred NJ. Epithelial proliferation and hormone receptor status in the normal post-menopausal breast and the effects of hormone replacement therapy. *Br J Cancer* 1998;78:845-9.
- [38] WHI Steering Committee. Effects of conjugated equine estrogen in postmenopausal women with hysterectomy. *JAMA* 2004;291:1701-12.
- [39] Sutherland RL, Prall OWJ, Watts CKW, Musgrove EA. Estrogen and progestin regulation of cell cycle progression. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 1998;3:63-72.
- [40] Anderson E, Clarke RB. Steroid receptors and cell cycle in normal mammary epithelium. *J Mammary Gland Biology and Neoplasia*. 2004;9:3-13.
- [41] Anderson TJ, Ferguson DJ, Raab GM. Cell turnover in the « resting » human breast: influence of parity, contraceptive pill, age and laterality. *Br J Cancer* 1982;46:376-82.
- [42] Schairer C, Lubin J, Troisi R et al. Menopausal estrogen and estrogen-progestin replacement therapy and breast cancer risk. *JAMA* 2000;283:485-91.
- [43] Gompel A, Chaouat M, Jacob D et al. In vitro studies of tibolone in breast cells. *Fertil Steril* 2002;78:351-9.
- [44] Levin ER. Cellular functions of plasma membrane estrogen-receptors. *Steroids* 2002;67:471-5.
- [45] Lange CA. Making sense of cross-talk between steroid hormone receptors and intracellular signaling pathways: who will have the last word? *Molecular Endocrinology* 2004;18(2):269-78.
- [46] Carlström K. Influence of intratumoral estradiol biosynthesis on estrogen receptors. Recent results. *Cancer Res* 1984;91:145-9.
- [47] Pasqualini JR, Chetrite GS. Estrone sulfatase versus estrone sulfotransferase in human breast cancer : potential clinical applications. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1999;69:287-92.
- [48] Wren BG. Do female sex hormones initiate breast cancer? A review of the evidence. *Climateric* 2004;7:120-8.
- [49] Weiderpass E, Adami HO, Baron JA et al. Risk of endometrial cancer following estrogen replacement with and without progestins. *Lancet* 1999a;91:1131-7.
- [50] Santen RJ, Pinkerton J, McCartney C et al. Risk of breast cancer with progestins in combination with estrogen as hormone replacement therapy. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:16-23.
- [51] Olsson HL, Ingvar C, Bladström A. Hormone replacement therapy containing progestins and given continuously increases breast carcinoma risk in Sweden. *Cancer* 2003;97:1387-92.
- [52] Shoker BS, Jarvis C, Clarke RB et al. Estrogen receptor-positive proliferating cells in the normal and precancerous breast. *Am J Pathol* 1999;155:1811-5.
- [53] Shoker BS, Jarvis C, Clarke RB et al. Estrogen receptor-positive proliferating cells in the normal and precancerous breast. *Am J Pathol* 1999;155:1811-5.
- [54] Dontu G, El-Ashry D, Wicha MS. Breast cancer, stem/progenitor cells and the estrogen receptor. *Trends Endocrinol Metab* 2004;15:193-7.
- [55] Salpeter SR et al. Mortality associated with hormone replacement therapy in younger and older women: a meta-analysis. *J Gen Intern Med* 2004;19(7):791-804.