

Rak dojke i hormonsko nadomjesno liječenje

Velimir Šimunić

“Centar za klimakterij i postmenopauzu Klinike za ženske bolesti i porode
Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu i KBC-a

Sažetak:

Više se desetljeća raspravlja o povezanosti raka dojke s endogenim i egzogenim steroidima, estrogenima i progesteronom. Posebno su zbunjujući i kontroverzni podaci o povezanosti hormonskog nadomjesnog liječenja (HNL) i raka dojke. Brojne epidemiološke analize i istraživanja koje su analizirale utjecaj HNL na učestalost raka dojke nisu do sada razjasnile da li je uopće prisutan. One su samo utvrdile da povišeni egzogeni, ali i endogeni estrogeni blago povisuju relativni rizik za rak dojke – RR 1.1 – 2.0. Kod sadašnjih korisnica on ovisi o trajanju HNL-a, sastavu hormona te dozi hormona u HNL. Također kod nekadašnjih korisnica RR 1,14, bez obzira na trajanje ranijeg korištenja HNL, se gubi za 5 godina. Treba naglasiti da RR ispod 2 najčešće nema statističke značajnosti, te je i njegova klinička vrijednost upitna. Brojne analize upravo to i pokazuju da se rizik za rak dojke blago povisuje nakon 5 godina korištenja HNL, međutim taj rizik je gotovo isti i nakon 10 godina HNL.

Korištenje HNL u žena koje su liječene zbog raka dojke svakako je najkontroverznije pitanje ovog područja. Za njega još uvijek nema jedinstvenog odgovora niti konsenzusa. Sadašnje spoznaje idu u smjeru neškodljivosti HNL-a za liječeni rak dojke. Ukoliko se neškodljivost dokaže, olakšao bi se izbor liječenja i hormonske nadoknade za te pacijentice što bi poboljšavalo kvalitetu života i smanjilo rizike za urogenitalnu atrofiju i osteoporozu.

Može se zaključiti da je činjenica da do danas niti jedna studija nije dala definitivni odgovor o stupnju rizika za rak dojke uz korištenje HNL-a što govori u prilog tome da je povezanost očito mala, studije heterogene, različite vrste HNL-a i doze hormona te različita istraživana populacija. Metaanalize opservacijskih studija nisu uvijek istinite i limitirane su u statističkom zaključivanju. Niti prospektivne randomizirane kliničke studije nisu dale definitivni odgovor.

Uvod

Rak dojke je najčešća zloćudna bolest u žena i predstavlja veliki zdravstveni problem i u Hrvatskoj. Učestalost raste sa dobi, a incidencija je najveća iza 60 godina života. Nakon 50. godine života kumulativni rizik da žena oboli od raka dojke je otprilike 10%, a da umre od njega 2-3%. Samo 5 do 10% žena oboli od te bolesti zbog genetskih predujeta, dok se za ostale smatra da rak induciraju ostali, uglavnom nepoznati

onkogeni.(1) Različite studije ukazuju na povezanost alkohola i učestalosti raka dojke. Relativni rizik je dvostruko viši u žena koje suvišno koriste alkohol.(2)

Više se desetljeća raspravlja o povezanosti raka dojke s endogenim i egzogenim steroidima, estrogenima i progesteronom, odnosno gestagenima. Razvoj karcinoma dojke očito je na neki način povezan sa estrogenima (3) jer je gotovo ekskluzivan za žene, češći u adipoznih žena zbog povišenog estrona i niskog SHBG-a (sex hormone binding globulina) što povisuje slobodne estrogene. Češći je i u žena koje nisu rađale, koje su imale manje trudnoća ili su kasno zanijele. Češći je u žena koje imaju višu gustoću kostiju. U kastriranih žena i onih s prijevremenom menopauzom je rijedak. Antiestrogeni kao što su tamoxifen, raloxifen i inhibitori aromataze snizuju učestalost raka dojke (1). Unatoč ovim činjenicama o povezanosti, rezultati brojnih studija o onkogenosti estrogena su zbunjujući i kontroverzni. Trudnoća čini se djeluje zaštitno na karcinom dojke i pridonosi boljoj prognozi nego u žena koje su razvile karcinom, a nisu trudne. Poznato je da operativno liječenje raka dojke u fazi žutog tijela ima najbolje izlječenje. Povišeni endogeni estrogene u klimakteriju donose relativni rizik - RR = 1,4, a PCOS (polycystic ovary syndrome) u perimenopauzi stvara RR=2,8 za razvoj karcinoma dojke. Najveće zanimanje i raspravu potiče pitanje o utjecaju egzogenih hormona, kao OHK (oralne hormonske kontracepcije), ali posebno ono o povezanosti hormonskog nadomjesnog liječenja (HNL) i raka dojke.

Relativni rizik za rak dojke povisuju mnogi vanjski i unutarnji čimbenici, kao što su debljina, korištenje alkohola, što pokazuje tablica 1.

Tablica 1. Relativni rizik za rak dojke



Odnos estrogena i progesterona prema nastanku raka dojke u središnjem je interesu zbog njihovog inače sinergističkog proliferacijskog djelovanja. Da razina cirkulacijskog estradiola i udruženo djelovanje sa P_4 nisu uvijek induktori onkogeneze pokazuju i spoznaje da u trudnoći, u menstrualnom ciklusu, te uz OHK razina E_2 je najviša, a sinergizam s visokim P_4 je najizraženiji. Ipak ta stanja djeluju zaštitno za rak dojke. Nasuprot tome prikazana stanja s niskim estradiolom i često bez progesterona povisuju rizik za rak. Očito je da starenje i dob uz neke druge biološke onkogene primarno induciraju karcinogenezu.

Ove se činjenice uklapaju u spoznaje o učinku estrogena i progesterona na dojku. Nedvojbeno je da normalne stanice dojke proliferiraju uz sinergizam hormona – estradiola, progesterona, prolaktina i inzulina. Taj se sinergizam nadopunjuje parakrinom sekrecijom čimbenika rasta epidermal growth factor, insulin like growth factor i transforming growth factor (EGF, IGF i $TGF\alpha$). Stoga ne začuđuje činjenica da je stupanj proliferacije stanica dojke najjači u trudnoći i fazi žutog tijela (5). Sličan učinak imaju steroidni hormoni na tumorske stanice dojke, ali čini se da oni mogu biti samo akceleratori njihovog rasta, a ne i induktori (3,5). Poznata je činjenica da rak dojke najčešće započinje svoj rast uz vrlo niske estrogene i bez progesterona, dakle u postmenopauzi.

Ovisnost raka dojke o estrogenima i progesteronu

Tumačenje ovisnosti raka dojke o estrogenima i progesteronu nije jednostavno i uvijek vjerodostojno. Nedvojbeno je povezanost raka dojke s razinom i aktivnošću sistemskih estrogena, kao i onima koji se lokalno sintetiziraju, ali kakvi su ti odnosi, kao i kakav je odnos prema aktivnosti drugih hormona, te parakrinom aktivnosti stanica raka dojke, treba još dokazati i utvrditi. Poznato je da rak dojke udružen s visokom razinom estrogena (endogenih ili egzogenih) ima puno bolju prognozu od onog što se ostvaruje u hipoestrogenim uvjetima.

Postoje prospektivne studije koje pokazuju kako su endogeni estrogene za 10 % povišeni u cirkulaciji, tri do osam godina prije dijagnoze raka dojke (6,7,8). Razina estradiola blago je povišena u perimenopauzi, tzv. endogena hiperstimulacija jajnika (4). Nedvojbeno je ipak da je razina estradiola najviša u reproduktivnoj dobi, kada tijekom urednih menstrualnih ciklusa prosječna dnevna razina estradiola iznosi oko 120 pg/ml (4), a samo pet dana unutar ciklusa ona je ispod 50 pg/mL.

Ako raku dojke treba 10 godina da naraste do 1 cm (9), tada visoki estradiol reproduktivnoj dobi nije promotor raka. Razine estradiola i progesterona najviše su u trudnoći, a poznati su nalazi o zaštitnoj ulozi trudnoće i ranog porođaja za rak dojke (3).

Trudnoća nakon liječenog raka dojke ne pogoršava, već poboljšava prognozu te bolesti (10). Teško je stoga protumačiti zašto izrazito visoke razine estrogena i progesterona u trudnoći ne djeluju onkogeno, već nasuprot tome imaju zaštitnu ulogu.

Dvije trećine žena koje obole od raka dojke starije su od 50 godina, a ta je bolest najčešća nakon 65. godine života. Tada je razina estrogena vrlo niska, a progesteron se gotovo i ne proizvodi. Velika većina žena s rakom dojke nikada nije koristila OHK niti HNL. Te činjenice svakako se suprotstavljaju teoriji o izravnom učinku steroidnih hormona na rak dojke.

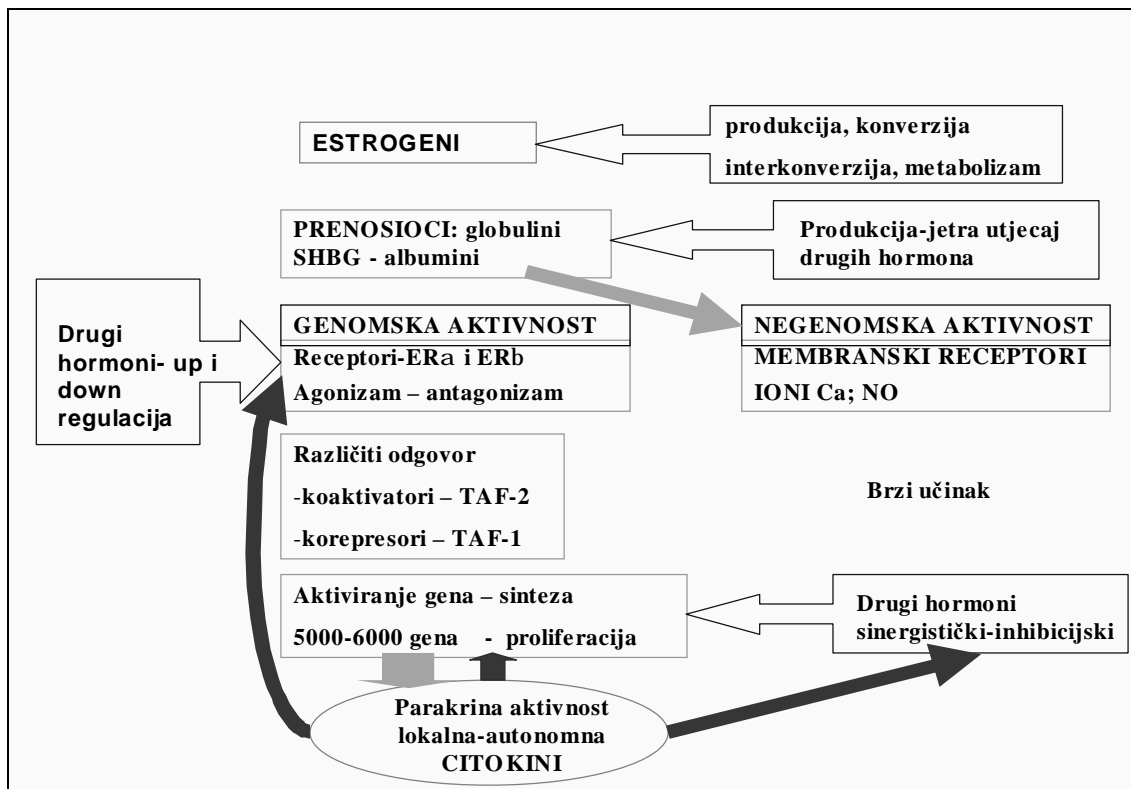
Povezanost estrogena i rak dojke ne možemo dokazati niti gustoćom receptora. Receptore za estrogene ima samo 10-15% tumorskih stanica dojke, a za progesteron 15-25% stanica. Postoje i nereceptorski putevi za aktivacijski učinak estrogena.

Aktivnost estrogena

Aktivnost estrogena vrlo je složena. Ona ovisi o ravnoteži produkcije (razini u cirkulaciji) i lokalnih tkivnih samoregulacijskih mehanizama (slika 3). Očito je da steroidni hormoni za svoju aktivnost i za indukciju proliferacije dojke koriste i druge puteve mimo genomskih receptora. Jedan od tih putova je i aktiviranje negenomskih, membranskih steroidnih receptora. Genomske i negenomske aktivnosti mogu djelovati sinergistički, ali i antagonistički (12).

Postreceptorska transkripcija ne ovisi samo o razini estrogena i receptora, već i o finoj ravnoteži u djelovanju koaktivatora i korepresora (13). Različiti estrogeni imaju različiti afinitet za vezanje na ER_{α} i ER_{β} što pridonosi selektivnoj akciji estrogena u tkivima. Vežući se za dva receptora nastaju dva ligand-receptor kompleksa, i tvori se dimer, koji može biti homodimer i heterodimer. To ovisi o tome da li su se estrogene molekule vezale na iste (α/α) ili različite receptore (α/β). Ciljna stanica (tkivo) ima autokrinu samoregulaciju jer utječe na distribuciju receptorskih izomera i različitost ekspresije koregulacijskih proteina. Citokini i faktori rasta utječu i na fosforilaciju receptora pa i time moduliraju gensku transkripciju. Dimer se veže na estrogen response element (ERE) koji se nalazi na genomu, što rezultira transkripcijom gena. Iz ovog pojednostavljenog opisa intranuklearne aktivnosti estrogena, vidljivo je kako samo na razini receptora, odnosno transkripcije možemo imati različitosti.(3)

Složenost tih zbivanja mogu samo djelomično protumačiti različite endogene ili egzogene razine steroidnih hormona. Djelovanje steroidnih hormona ovisi i o metabolizmu u jetri, te o trajnoj interkonverziji, što posebno vrijedi za estrogene.



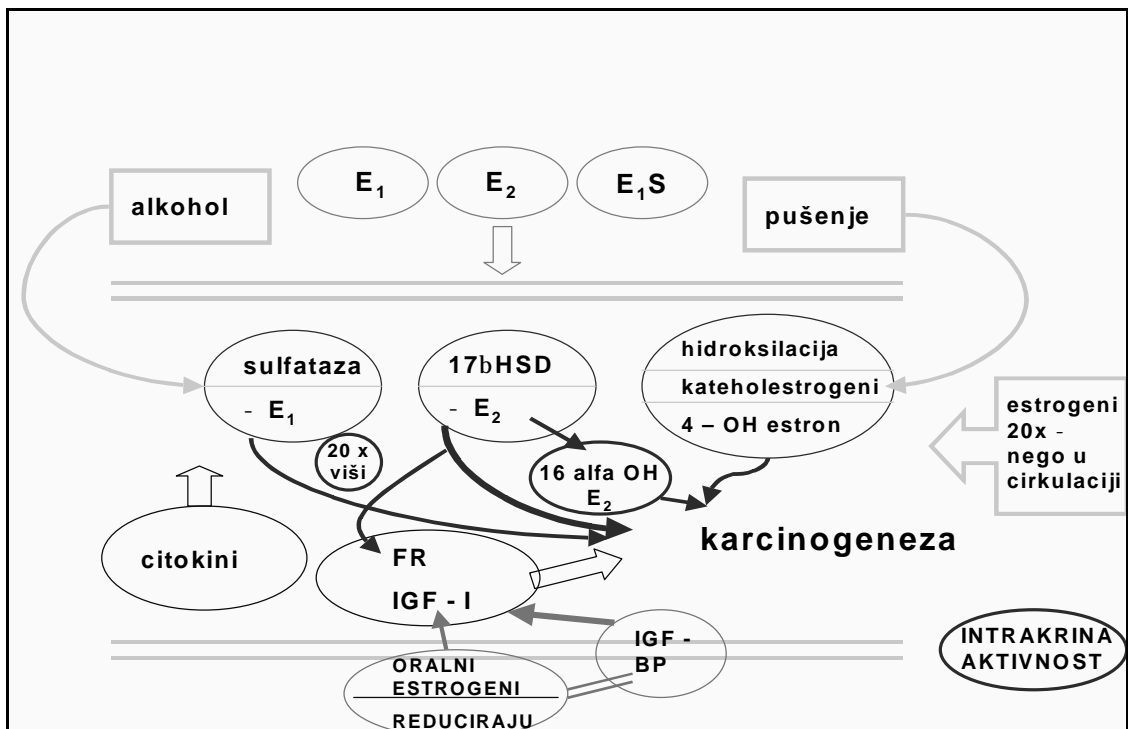
TAF-transkripcijska aktivacijska funkcija; NO-dušikov monoksid;

Slika 3. Estrogeni – aktivnost hormona

Trajno visoke doze estrogena mogu imati istu učinkovitost u supresiji raka dojke kao i tamoxifen. Konzumiranje alkohola snižava estrogene u cirkulaciji, a istovremeno je alkohol rizičan čimbenik za rak dojke (1, 3, 14) jer potencira unutarstanične promjene estrogena.

Kod djelovanja steroidnih hormona moramo istaknuti da se njihova aktivnost ostvaruje izravno, ali i preko različitih metabolita. Glavni je metabolit estrogena, estron sulfat (E_1S), najviši ali i inaktivni estrogen koji služi kao trajni rezervoar estrogena. Konjugirani estrogeni (Premarin) djeluje preko 10-tak konjskih estrogena i metabolita koji nisu u potpunosti istraženi.

Lokalna aktivnost hormona u normalnim i abnormalnim stanicama dojke također je od važnosti, a ona se može razlikovati. Stanice raka dojke imaju pojačanu aktivnost sulfataze i 17 beta hidroksteroidehidrogenaze ($17\beta HSD$), a u masnom tkivu dojke pojačano djeluje aromataza. Zato su lokalno povišeni estron, estradiol i estron sulfat (slika 4.) Alkohol i pušenje dodatno stimuliraju sulfatazu i aromatazu. Lokalni, tkivni estrogeni tada su i 20 puta viši nego u krvi. Intrakrina produkcija $16\alpha OH$ estradiola, kateholestrogena (4 OH estron) i IGF -I (insulin growth factor) dodatni su mogući čimbenici karcinogeneze. Estrogeni djeluju na bcl-2 i telomerase i tako potiču ili inhibiraju apoptozu.



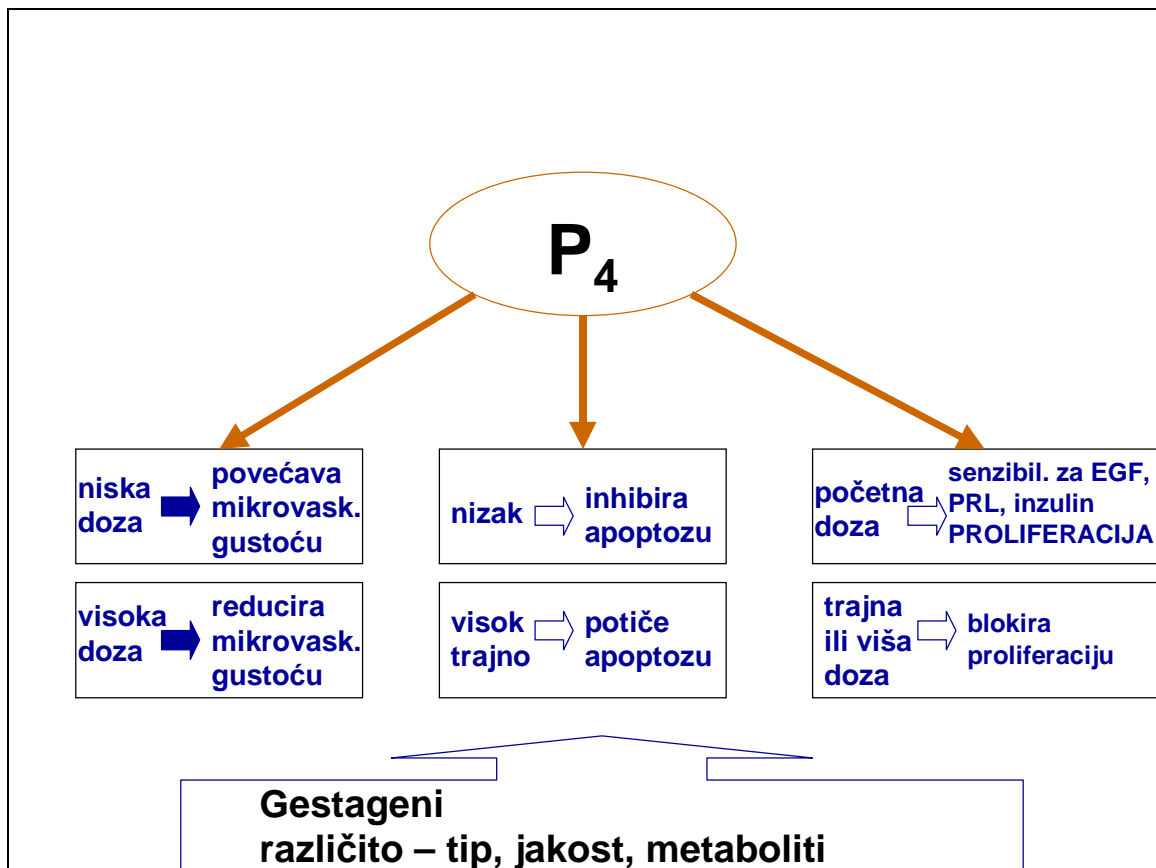
E1-estron,; **E2**-estradiol, **E1S**- estron sulfat; **FR**- faktor rasta; **IGF** – inzulinu sličan faktor rasta; **IGF**- BP-IGF vezajući protein; **17bHSD**- 17 beta hidrosisteroiddehidrogenaza

Slika 4. Rak dojke – lokalna produkcija i metabolizam estrogena

Aktivnost progesterona

Progesteron je samo u endometriju potpuni oponent estrogenima. U ostalim tkivima on je promjenjive aktivnosti. U endometriju reducira estrogene receptore (ER), inducira enzime (sulfotransferazu) i reducira enzime (17 β HSD 1 i 2, sulfatazu i aromatazu) te održava ravnotežu matrix metalloproteinaze (MMP) i lizosome.

Zanimljivo je da progesteron, odnosno gestageni, u niskoj dozi imaju početno proliferacijsko djelovanje. Tada oni senzibiliziraju stanice dojke za učinak epidermalnog faktora rasta - EGF-a. Ponavljana i viša doza progesterona, te trajnije djelovanje, imaju posve obrnuti učinak. Tada se blokira proliferacija (15,16). Niske doze gestagena povećavaju mikrovaskularnu gustoću i inhibiraju apoptozu, dok visoke doze reduciraju mikrovaskularnu gustoću, a potiču apoptozu (16). Također, različiti gestageni, ovisno o svom porijeklu, imaju različitu učinkovitost u pojedinim tkivima. (slika 5.)



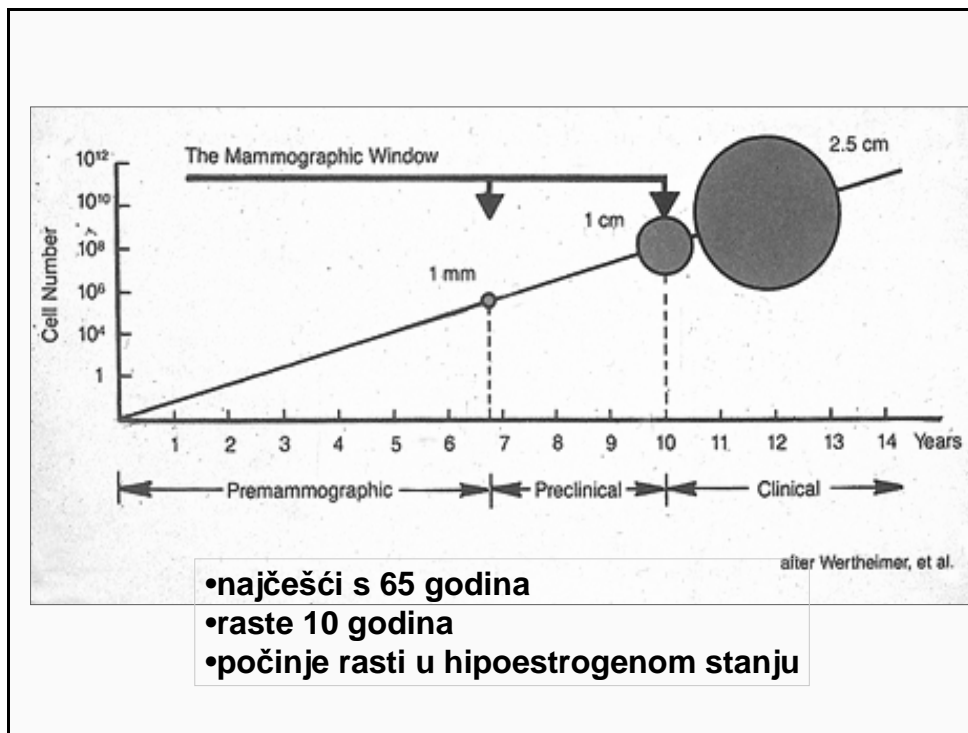
Slika 5. Progesteron – proliferacijsko ili inhibicijsko djelovanje

Gestageni se različito metaboliziraju, pa time i različito zadržavaju u cirkulaciji. Glavni metaboliti su sulfati i glukuronidi. Sulfati su trajniji u aktivnosti.

Steroidni hormoni utječu i na smrtnost stanica. Estradiol snižava, a progesteron povisuje ekspresiju gena bcl-2, uključuju se i u aktivnost proapoptotičkog p53. Ipak i ta je aktivnost steroidnih hormona ovisno o dozi, razini i trajnosti djelovanja hormona.

Steroidni hormoni različito djeluju u in vivo i in vitro uvjetima. Također treba istaknuti da aktivnost metabolita steroidnih hormona ne mora biti jednaka roditeljskom steroidu (16). Tibolone djeluje samo preko svojih metabolita, a Premarin preko metabolita kobiljih estrogena.

Od tuda proizlazi različitost nalaza brojnih istraživanja o ovisnosti raka dojke o steroidnim hormonima. Svakako treba ponoviti, da ako rak dojke do 1 cm veličine raste 10 godina, a najveća učestalost te bolesti je s 65 godina starosti žena, tada je početak karcinogeneze u vrijeme vrlo niskih estrogena (slika 6.).



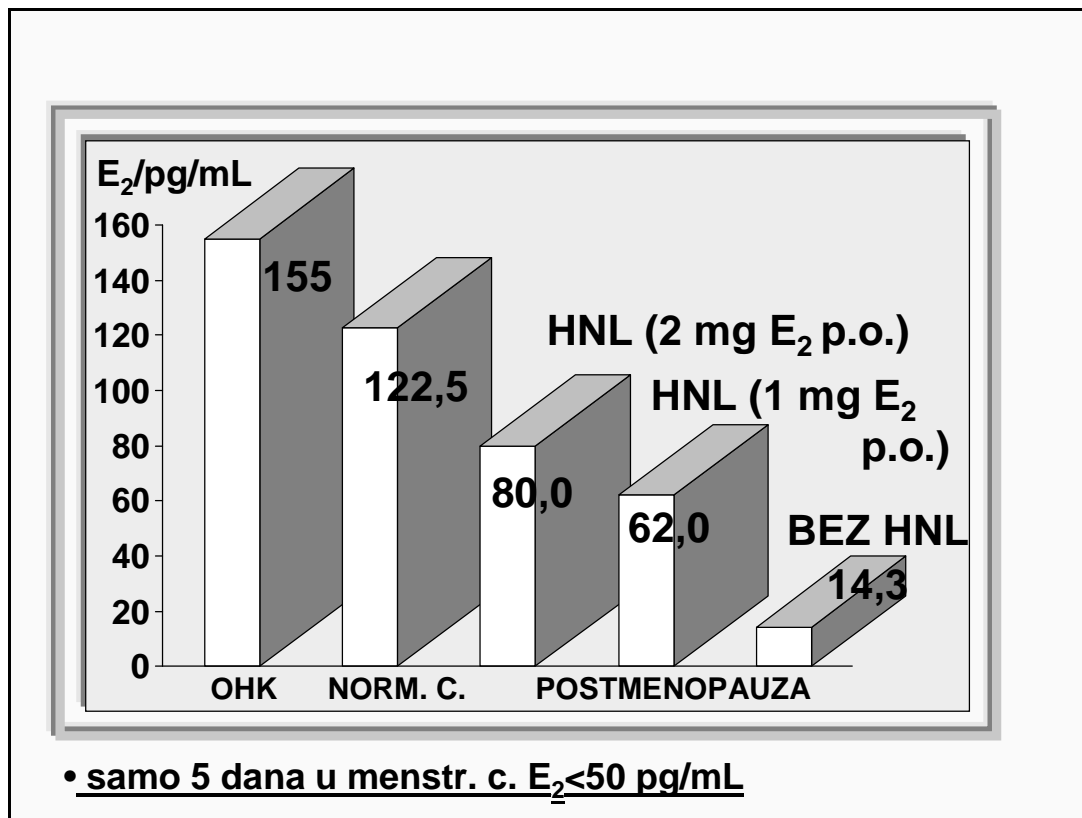
Slika 6. Rast raka dojke – klinička i MMG prepoznatljivost

Oralna hormonska kontracepcija (OHK) i rak dojke

Čini se da uz dugotrajnu primjenu oralne hormonske kontracepcije (OHK) rizik za rak dojke nije uopće povišen, ili je tek minimalno viši. To pokazuje reanaliza 54 epidemiološke studije (54 tisuće žena) koja ukazuje na RR 1,07-1,24 uz hormonsku kontracepciju (17). Treba istaknuti da sintetski hormoni u OHK stvaraju značajno višu razinu steroida u cirkulaciji nego što su oni u prirodnom ciklusu ili uz HNL. Uz kontracepciju je razina cirkulirajućih estrogena dvostruko viša nego uz HNL.

Hormonsko nadomjesno liječenje (HNL) i rak dojke

Hormonsko nadomjesno liječenje je najčešće kombinacija estradiola ili konjugiranih estrogena s različitim gestagenima. Dva mg E₂ dnevno ili 0,625 mg Premarina ostvaruje dnevnu razinu estradiola u krvi od oko 60-80 pg/ml. Danas sve više koristimo niskodozažnu HNL koja ima pola gore navedene doze, tako da je i razina E₂ u cirkulaciji niža za 15-20% (slika 7.) Razina serumskog estradiola najviša je uz niskodozažnu hormonsku kontracepciju. Ta je razina gotovo 3 puta viša od one uz niskodozažno HNL.



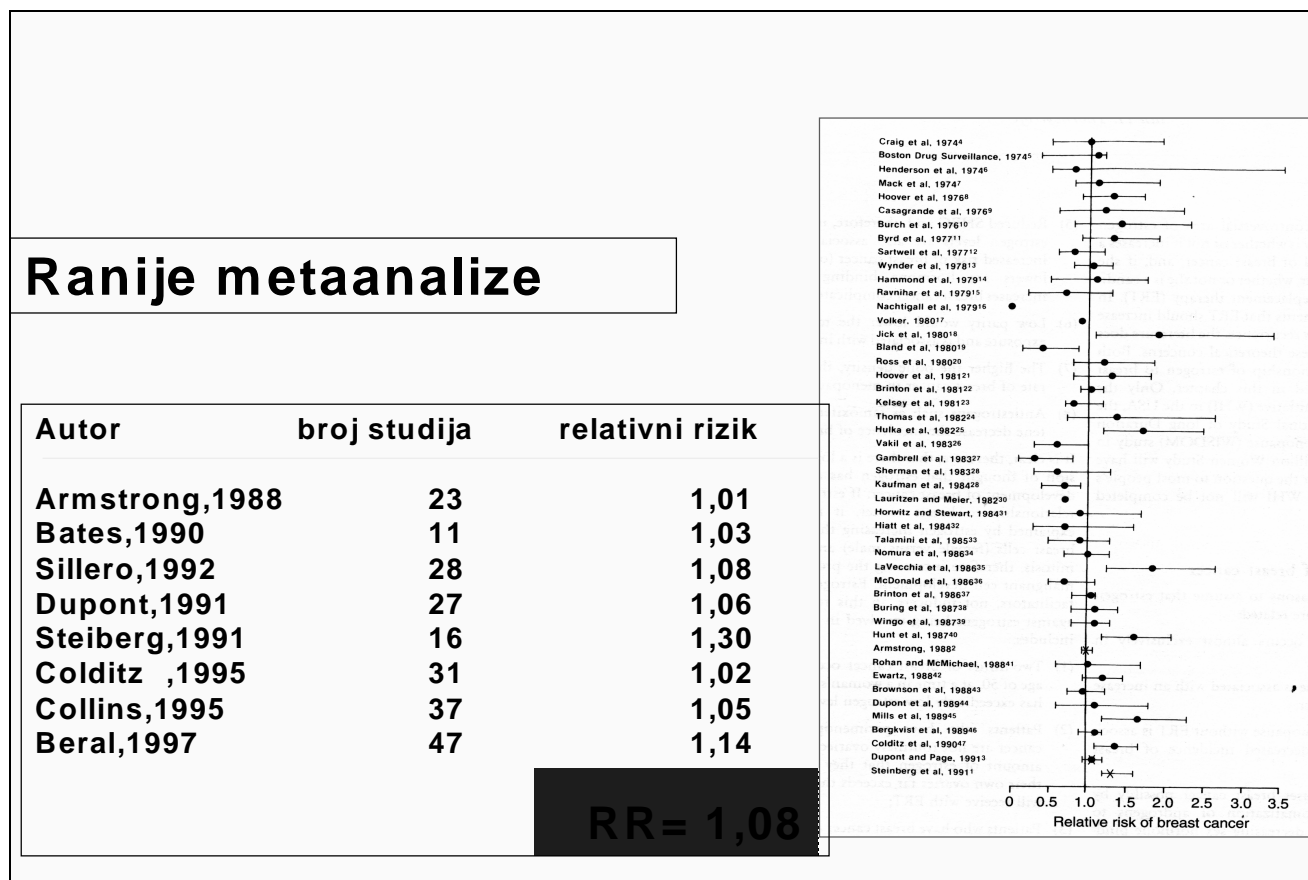
OHK-oralna hormonska kontracepcija; **Norm.c**-normalan ciklus; **HNL**-hormonsko nadomjesno liječenje

Slika 7. Prosjek dnevne razine estradiola u reproduktivno doba i postmenopauzi uspoređen sa OHK i HNL

Dnevne razine estrogena u krvi žene u postmenopauzi značajno su niže od onih u reproduktivno doba. Smatra se da su ipak dovoljne da potaknu proliferaciju u dojci, te vjerojatno ubrzavaju i rast stanica raka dojke. Za takvo djelovanje očito je potrebna nepoznata onkogenetska predigra.

Brojne epidemiološke analize i istraživanja nisu do sada razjasnile utječe li HNL na učestalost raka dojke. One su samo utvrdile da povišeni egzogeni, ali i endogeni estrogeni blago povišuju relativni rizik za rak dojke – RR 1,1-2,0. Tim studijama je neobično teško izdvojiti samo jedan čimbenik koji nosi rizik kao što je to npr. HNL. Tek su naknadno utvrđeni kofaktori rizika kao što su alkohol, pušenje i slično. Pretpostavlja se da će se naknadno pojaviti i drugi, danas nepoznati dopunski nosioci rizika za onkogenezu u dojci. Šarolikost nalaza tih studija pokazuje i slika 8., na kojoj su uspoređeni rezultati tih metaanaliza (3). Treba naglasiti da RR ispod 2 najčešće nema statističke značajnosti, te je i njegova klinička vrijednost upitna. Takva razina RR može lako nastati i zbog preklapanja više mogućih uzroka neke bolesti (bias).

Ranije metaanalize (od 1988.g. do 1997.godine) obuhvaćaju 47 najznačajnijih istraživanja (slika 8.). One zajednički ukazuju da HNL ne povisuje rizik za rak dojke.



Slika 8. Ranije metaanalize o povezanosti HNL i raka dojke

Speroff je u analizi 50 radova samo u 3 našao da povišeni RR ima i statističku značajnost (5). Podsjetit ćemo da RR oko 2 za nastanak raka dojke, nastaje uz adipozitet i konzumiranje alkohola (1,3,5).

Nekadašnje korisnice HNL (ever users) imaju RR 1,14 za rak dojke, što znači da one nisu u bitno povišenom riziku. Bez obzira na trajanje ranijeg korištenja HNL, taj nekadašnji rizik se izgubi za 5 godina (3,5,18,19).

U jednoj prospektivnoj studiji (20) od 168 ispitanica pola ih je koristilo HNL, a 84 placebo. Nakon 22 godine dijagnosticirano je 6 slučajeva raka dojke i to svi u kontrolnoj skupini. Zamjerka joj je da je istraživana skupina premala. Da bivše korisnice HNL nemaju povišeni rizik za rak dojke, pokazalo je i Nurses Health Study na 69 tisuća žena (21).

Sadašnje korisnice HNL (current users) imaju blago povišenje RR za rak dojke, ovisno o trajanju HNL, sastavu hormona, te o dozi hormona u HNL. Da HNL uopće ne povisuje rizik za rak dojke pokazala su istraživanja (22,23,24):

- Kaufman i sur. 1991
- Toronto BCS 1991

- Washington Study 1995

Iowa Women's Health Study (25) je utvrdila da je povišeni rizik za rak dojke samo u onih žena koje uz HNL konzumiraju alkohol. Samo HNL niti nakon 8 godina korištenja ne povisuje statistički značajno rizik za rak. Prema toj studiji rizik za rak dojke nije statistički značajno povišen niti u korisnicima HNL koje imaju obiteljski rizik za rak dojke.

Newcomb i sur. (26) su velikim kontroliranim istraživanjima utvrdili da niti jedna vrsta HNL, niti nakon 15 godina ne povisuje rizik za rak dojke.

Najcjelovitije studije i istraživanja s najvećim brojem ispitanica su one Beral i sur. (27,28) i Colditz i sur. (21). Beralina grupa epidemiologa je analizirala 51 studiju o povezanosti HNL i raka dojke (Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer), a Colditz je analizirao Nurses Health Study. Metaanaliza Valeri Barel je obradila gotovo 53 tisuće žena s rakom dojke, a Colditz je analizirao 69 tisuća žena u postmenopauzi kroz 16, odnosno 20 godina. Zamjerka je toj studiji da su istraživane mlađe i zdravije žene. Zaključci tih studija su da samo sadašnje korisnice HNL imaju blago povišeni rizik za rak dojke:

RR za rak dojke		
	5-9 g. HNL	>10 g. HNL
Nurses Health Study	1,46	1,46
Collaborative Group	1,35	

Upadljivo je da se nakon 5 godina HNL taj rizik ne povećava značajno.

U žena s HNL rak dojke je najčešće lokaliziran. Obiteljska anamneza ne povisuje rizik. Rizik za rak dojke najviši je u mršavim ženama koje dugotrajno koriste HNL (27,28). Perrson i sur. (29) su u nedavnoj švedskoj studiji našli da HNL kraće od 6 godina stvara RR 1,4, a duže od 6 godina RR 1,7.

Najznačajnija svjetska istraživanja o odnosu HNL i raka dojke prikazati ćemo prema rezultatima u dvije tablice:

Tablica 2. Studije prema kojima dugotrajna HNL povisuje RR za rak dojke

Studija	RR
¹ Nurses Health Study,	1.46
² Uppsala study	1.7
³ Kaiser cohort study	2.0*
⁴ BCDDP Estrogen-Progestin Study	1.4
⁵ Los Angeles Case-Control Study	1,38*
⁶ Washington Case-Control Study	2,6*
⁷ Švedska studija	1,35

⁸ Hutchinson Cancer RC	1,6*
⁹ Oxford study Collaborative group	1,35
UKUPNO	1,65

¹ 69 000 žena ⁴ 46 355 žena ⁷ 23 244 žena
² 23244 žena ⁵ 3534 žena ⁸ 705 žena
³ 454 žena ⁶ 1029 žena

Ukupni broj žena uključenih u studije: 167 565

U te studije bilo je uključeno gotovo 170 tisuća žena i više od 60 tisuća slučajeva raka dojke. Ipak 4 istraživanja *(3, 5, 6 i 8) nemaju nikakve statističke značajnosti jer su naišle na tek desetak oboljelih od raka dojke.

Tablica 3. Studije prema kojima dugotrajna HNL ne povisuje RR za rak dojke

Studija	RR
¹ Washington Case-control study	0,8
² Iowa Women's Health Study	1,17
³ NHANES Follow-up Study	0,8
⁴ Los Angeles Case-Control Study	1,09
⁵ Carolina Breast Cancer Study	0,8
UKUPNO	0,93

¹ 1029 žena ³ 5761 žena ⁵ 822 žena
² 41 837 žena ⁴ 3534 žena

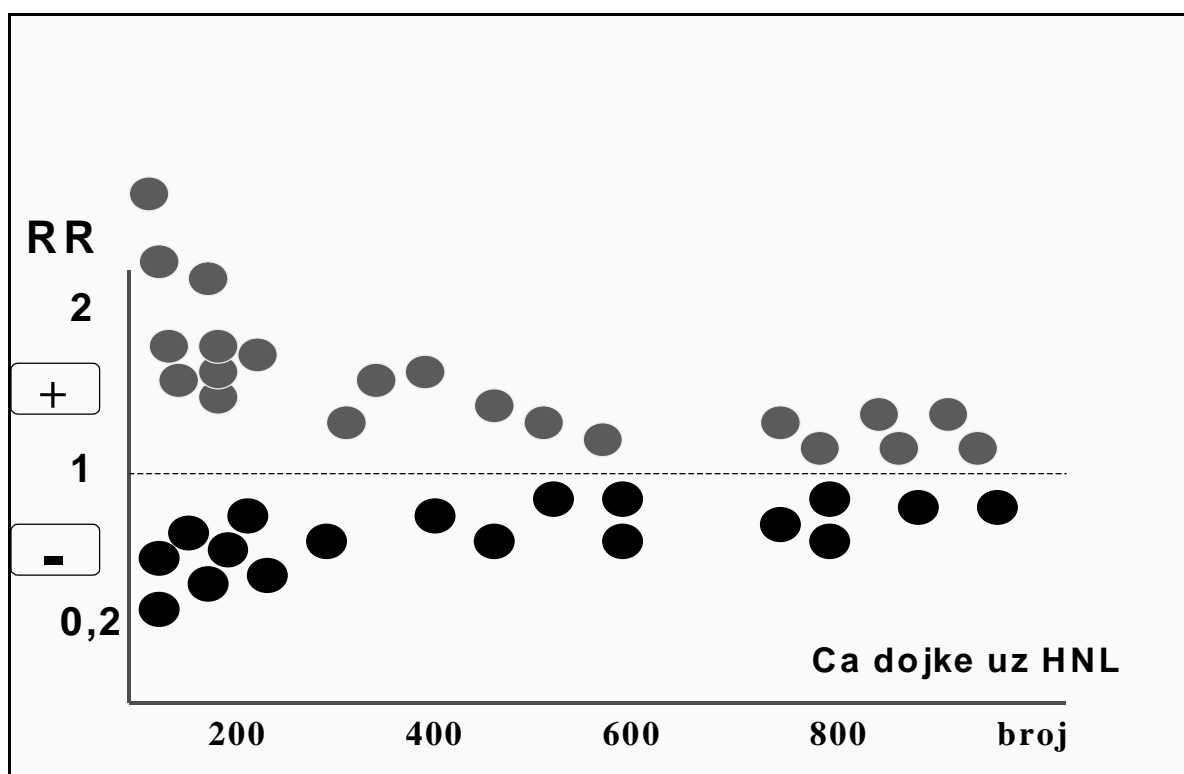
Ukupni broj žena uključenih u studije: 52 983, s više od 2000 slučajeva raka dojke

I ove studije koje ukazuju na negativan (zaštitan) odnos HNL i raka dojke imaju zamjerku da neke stvaraju zaključke na malom broju slučajeva raka dojke.

Najveća metaanaliza 100 radova iz razdoblja 1975. – 2000. g. pokazuje da HNL, odnosno kombinirana (estrogeni+gestageni) ne povisuje rizik za karcinom dojke. (30) Bush je analizirajući radove s gotovo 100 tisuća ispitanica našla da je RR za rak dojke uz HNL u 20% radova manji od 0,9%, u 47% radova RR je između 0,9 i 1,1, a samo 33% radova navodi rizik veći od 1,1. Nedvojbena je činjenica koja proizlazi iz analize svjetske literature , da što je manji broj žena oboljelih od raka dojke uz HNL, to je skretanje relativnog rizika –

RR veće ili u pozitivnom ili u negativnom smjeru (slika 9.). Nasuprot tome u, radovima s velikim brojem ispitanica, pa tako i slučajeva s rakom (> 500 slučajeva raka dojke) relativni rizik je blizu 1, uz sasvim mala odstupanja prema povećanju ili sniženju. Takvo zapažanje potvrđuje Švedska studija koja je kod prve objave utvrdila RR od 4,4, a imala je samo 10 slučajeva raka dojke. Deset godina kasnije, nastavkom istraživanja i povećanjem brojeva, RR bio je 1,7, ali još uvijek statistički beznačajan.

Iz navedenog mogli bi zaključiti da sadašnje korištenje HNL, koje je duže od 5 godina, blago povisuje rizik za rak dojke. Taj učinak potencira konzumiranje alkohola. Rizik se dodatno ne povisuje u žena s ranijim benignim bolestima dojki ili zbog obiteljskog rizika pacijentice.



Slika 9. Utjecaj broja oboljelih od raka dojke na RR u epidemiološkim analizama

Treba još jednom istaknuti da je $RR < 2.0$ je slab pokazatelj i njegova je klinička vrijednost upitna. Također i pouzdanost epidemioloških studija ovisi o više čimbenika (1):

- odnosu doze i trajanja HNL
- udruženosti različitih čimbenika rizika
- značajnosti povezanosti i rizika (statističkoj obradi)
- vremenu ekspozicije za bolesti-uniformnosti istraživanja
- ponavljanju preračunavanja, jer može povećati grešku
- upotrebi postotaka što preneglašava efekt
- kada je apsolutni rizik mali (mala incidencija) tada ni RR ne treba izražavati u postocima

Dosadašnje analize pokazuju da se rizik za rak dojke blago povisuje nakon 5 godina korištenja HNL, međutim taj rizik je isti i nakon 10 godina HNL. Prema navodima iz literature rizik se povisuje za 10-46% u odnosu na apsolutni, opći rizik, ili 2,3% porasta RR godišnje. Da bi upotpunili ovo tumačenje treba istaknuti da svaka godina zakašnjele menopauze također povisuje rizik za 2,8% (5). To znači da endogeni i egzogeni estrogene jednako povisuju rizik.

Rizik za rak dojke uz dodatak gestagena u HNL

Dodatak gestagena u HNL neophodan je zbog njihove zaštitne uloge na endometriju. Danas su to standardni protokoli za sve žene koje imaju maternicu. Oprez se stvorio kada se utvrdilo sinergističko proliferacijsko djelovanje progesterona (i gestagena) na stanice dojke. U sredini luteinske faze ciklusa, kada su estrogene i progesteron najviši, maksimalna je i mitotička aktivnost. Zato se mislilo da i sam progesteron može biti promotor raka dojke [3,19]. Strah od gestagena pojačale su i neke in vitro studije koje su utvrdile njihovu proliferacijsku aktivnost. Tu bojazan poduprle su neke analize koje su našle da samo estrogene u ENL stvaraju RR 1,1 za rak dojke. Taj rizik uz HNL (estrogen+gestagen) raste na 1,38 [3,5,19]. Podrobne reanalize utvrdile su da samo sekvencijsko davanje gestagena (kombinirana HNL) stvara povišeni RR. Relativni rizik je 1,09 kada se svakodnevno daju i gestageni [5,19]. Povremeni gestageni povisuju RR samo za lobularni, a ne za duktalni karcinom dojke. Danas se smatra da svakodnevno i trajno dodavanje gestagena uz estrogene povoljno utječe na dojku jer:

- snižavaju ER
- induciraju apoptozu
- snižavaju P₄R
- reduciraju lokalnu (u dojci) aromatazu i sulfatazu

Derivati 19-nortestosterona najbolje induciraju gornje aktivnosti. Zaključno možemo reći, da gestageni kada se daju kontinuirano ne povisuju rizik za rak dojke, već su inertni. Tako se naime mislilo do nedavno. Ipak, treba ponovno istaći da nema uniformnog tumačenja djelovanja gestagena.

Denzitet mamografija se mijenja uz HNL

Hormonsko nadomjesno liječenje, posebno gestagena komponenta, povećava MMG denzitet dojki u 20-70% žena. Gustoća dojki se povećava već za 4 mjeseca korištenja HNL, a najviša je nakon 12 mjeseci HNL. Te promjene za 20% smanjuju osjetljivost MMG i time pouzdanost te dijagnostičke metode. [36]. Zato se preporučuje da žene s povišenim rizikom i nejasnim nalazima prekinu na 2-3 tjedna HNL prije MMG. Naravno da je u tim slučajevima preporučljivo koristiti UZV i druge dijagnostičke metode.

Osobine raka dojke u korisnica HNL

Dugo se mislilo da je rak dojke koji se otkrije u korisnica HNL manje agresivan i ima bolju prognozu. Razlog je čini se, da HNL akcelerira rast postojećeg tumora koji se otkriva u nižem stadiju. Burch i sur. [21] prvi su ukazali da HNL donosi bolju prognozu za rak dojke. Kasnije je to potvrdila većina autora (32,33,34,35,36), te ćemo zbirno prikazati rezultate (tablica 3.)

Dupont je u metaanalizi 5 studija utvrdio da ranije benigne bolesti dojke ne povisuju rizik za rak dojke kod korisnica HNL. Tu je rizik čak nešto niži, pa zato HNL nije kontraindicirano [27].

Magnusson [25] je našao da najbolje osobine i prognozu ima rak dojke u korisnica HNL sa trajnom E+P kombinacijom.

Tim nalazima pridružuju se analize koje ukazuju da rak dojke u premenopauzi (kada su estrogeni povišeni) ima bolju prognozu od raka u postmenopauzi [10]. O'Connor je utvrdila drugačiju ekspresiju imunohistokemijskih markera - bcl-2 i p53 između HNL korisnica i onih žena koje ne koriste HNL. Samo su dva rada utvrdila nešto viši mortalitet u korisnica HNL, ali oni su obrađivali manji broj pacijentica [19].

Tablica 4.

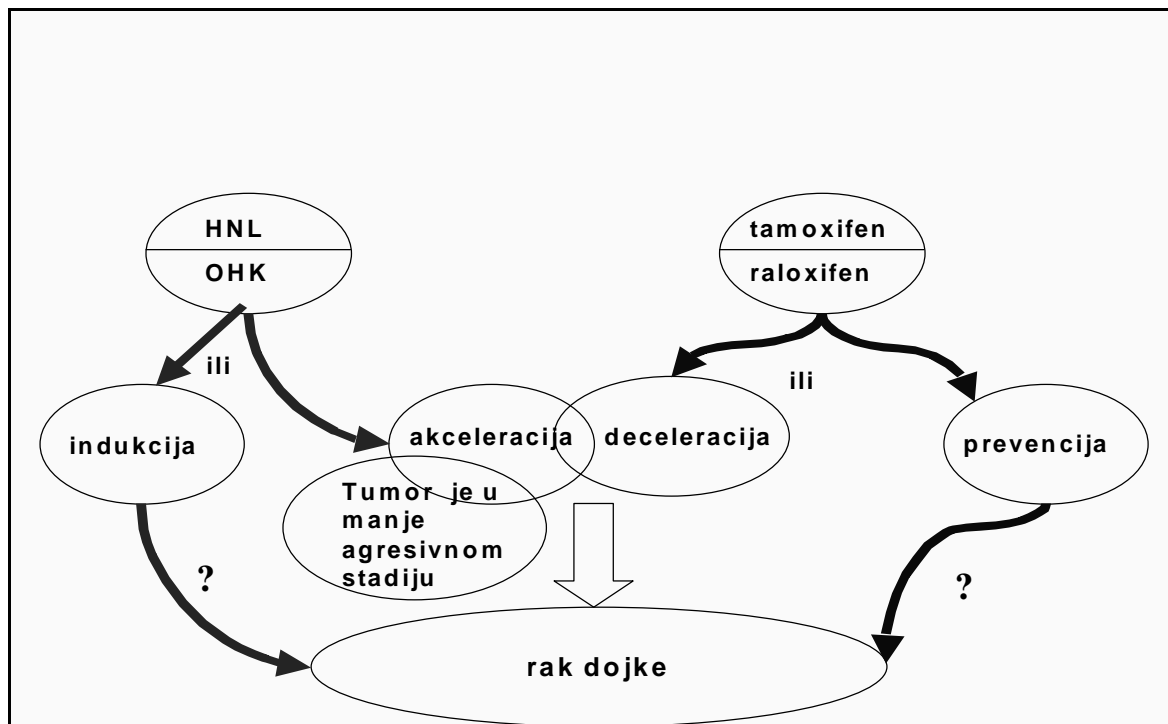
Osobine raka dojke u korisnica HNL

Tumor je manji i ima bolju prognozu
Niža učestalost pazušnih metastaza (za 50%)
Stadij I i IIA u 72% bolesnica
Povoljniji histološki tip tumora (zreliji)
Slična učestalost pozitivnih receptora
Sniženi rizik za fatalni ishod (pad za 16-19%)

ACS Cohort Study je 12 godina pratila 290 tisuća žena i utvrdila da ENL ne povećava rizik za smrt od raka dojke.

Poznato je da žene koje uzimaju HNL značajno češće (za 15-20%) koriste mamografiju, od žena koje ne uzimaju HNL. To znači da se rak dojke ranije i češće otkriva u korisnica HNL (3,5). Možda hormonsko nadomjesno liječenje samo akcelerira rast već postojećeg tumora i otkriva se manje agresivan rak. Moguće je da je tada u povoljnijem stadiju.

Modulatori estrogenih receptora – tamoxifen i raloxifen smanjuju učestalost raka dojke (5). Oni se danas sve češće koriste za prevenciju raka dojke kada postoji povišen rizik za tu bolest. Isto vrijedi za inhibitore aromataze.



Slika 11. HNL –indukcija ili akceleracija rasta raka dojke (modificirano prema Speroffu (5))

Na slici 11. prikazana je današnja hipoteza kojom HNL ne inducira rak dojke, niti ga SERM preveniraju. Oni su samo mogući akceleratori, odnosno deceleratori rasta već postojećeg (preegzistentnog) raka dojke.

Zašto dosadašnja istraživanja nisu dala odgovor?

Zašto 60 velikih studija nije dalo odgovor? Sigurno zato jer povezanost HNL i raka dojke nije visoka i jer nije utvrđeno da estrogene induciraju, a SERM preveniraju rak dojke. Pitanje je da li možda mi samo mijenjamo vrijeme dijagnoze?

Želimo li protumačiti što znači to povišenje relativnog rizika, moramo znati što je apsolutni rizik za rak dojke. Za sve dobne skupine žena taj rizik je 80-110 oboljelih na 100 tisuća žena. Kako starenjem učestalost raka dojke značajno raste, apsolutni rizik u žena nakon 60. godine je 420/100 tisuća žena. To znači da ovisno o dobi 0,1 odnosno 0,42% žena oboli od raka dojke.

Možemo zaključiti da od 60 svjetskih studija (i metaanaliza) u zadnjih 35 godina, samo u 3 su rezultati RR statistički značajni. U 9 najvećih dosadašnjih analiza oko 150 tisuća pacijentica, izračunati rizik uz dugotrajnu HNL je 1,18 (od 0,7 – 1,7). Dvije studije-Nurses Health Study and Oxford study zajedno daju RR - 1.40. Dosadašnja je svjetska literatura pokazala da 10 godina korištenja HNL povisuje relativni rizik –RR= 1,23 što bi bilo 23% (18-40%) povećanja relativnog rizika ali samo 0,1% povećanja apsolutnog rizika.

Ove analize još je bolje postavila Collaborativna grupa:

Tablica 5.

Rizik za rak dojke – kumulativno od 50.-70. godine života

* bez HNL	45/1000
* 5 god HNL	47/1000
* 10 god HNL	51/1000
* 15 god HNL	57/1000

To znači da 15 godišnje korištenje HNL povisuje rizik za 12‰ (5).

Brojne studije koje su većim dijelom i ovdje prikazane, nisu dale definitivan odgovor o stupnju rizika kojeg stvara HNL. Razlozi za još uvijek prisutne dileme su [5]:

- povezanost HNL i raka dojke očito je mala, jer bi u protivnom sve studije imale jedinstvene nalaze
- studije su heterogene
- različite su vrste HNL i doze hormona
- različita je istraživana populacija
- teško je isključiti druge rizične čimbenike

Metaanalize nisu uvijek potpuno pouzdane i limitirane su u statističkom zaključivanju.

Novija istraživanja o HNL i raku dojke a posebno prospektivne i kontrolirane studije, smatraju se najvišim stupnjem medicine temeljene na dokazima (evidence based medicine). To posebno vrijedi za Heart and Estrogen/Progestin Replacement Study (HERS) te Women Health Initiative studiju (WHI) (39,40). To su randomizirane, placebo, kontrolirane, prospektivne studije o utjecaju jednog specifičnog visokodozažnog HNL (Premarin+Provera) u postmenopauzalnih žena prosječne starosti 67 odnosno 63 godine. Zbog svojih nalaza i statističke snage te su studije privremeno poljuljale naše povjerenje u HNL, iako su pokazale isto što su već ranije bili nalazi opservacijskih istraživanja.

Povezanost raka dojke i HNL u HERS i WHI studiji prikazujemo u tablici 6.

Studija	relativni rizik	Confidence intervali
HERS	1,30	0,77 - 2,19
HERS II	1,08	0,52 – 2,24
WHI	1,24	1,01 – 1,54 *
WHI (bez ranijeg HNL)	1,09	0,86 – 1,39
WHI (ranije HNL 5g)	1,70	0,99 – 2,91

* samo WHI u produženom istraživanju ima slabu statističku značajnost

Zanimljivo je da je RR za rak dojke uz HNL u WHI studiji najviši u 5. godini istraživanja zbog naglog pada broja oboljelih u placebo grupi žena. Već u 6. godini ovog istraživanja taj je rizik dvostruko manji. Taj statistički nalaz do danas nije razjašnjen. Objektivne zamjerke navedenim istraživanjima su visoke doze HNL davane starijim ženama, debelim ženama (BMI 28,5 kg/m²), koje puše i često konzumiraju alkohol. Jedna trećina žena ranije je dugotrajno koristila isti HNL. Utvrđeno je da statističku snagu ovih istraživanja umanjuje i moguće preklapanje (bias) brojnih poznatih uzročnih čimbenika. Otvoreno je stoga pitanje da li su zdravstvene osobine istraživanih žena bile veći hendikep za HNL nego za placebo. Mora se ipak prihvatiti činjenice koje su pokazane u WHI studiji. To je blago povišenje relativnog rizika (RR 1,24) za invazivni rak dojke uz HNL, uz RR 1,18 za ca in situ. Povećanje rizika od 1,24 donosi u WHI studiji apsolutni učinak od 8 oboljelih žena više ali na 10 000 žena/godišnje. To znači da je povišenje rizika za rak dojke nisko, te će 5 godina HNL stvoriti rizik za 0,4% žena. To je rizik kojeg donose i dvije čaše vina dnevno. Suprotno našem dosadašnjem znanju, WHI studija je pokazala da rak dojke uz HNL ima iste histološke osobine i stadij (41). Tumor u HNL grupi je nešto veći (1,7 cm prema 1,5 cm) nego u placebo grupi, a pozitivni limfni čvorovi su češći (25,9% prema 15,8%).

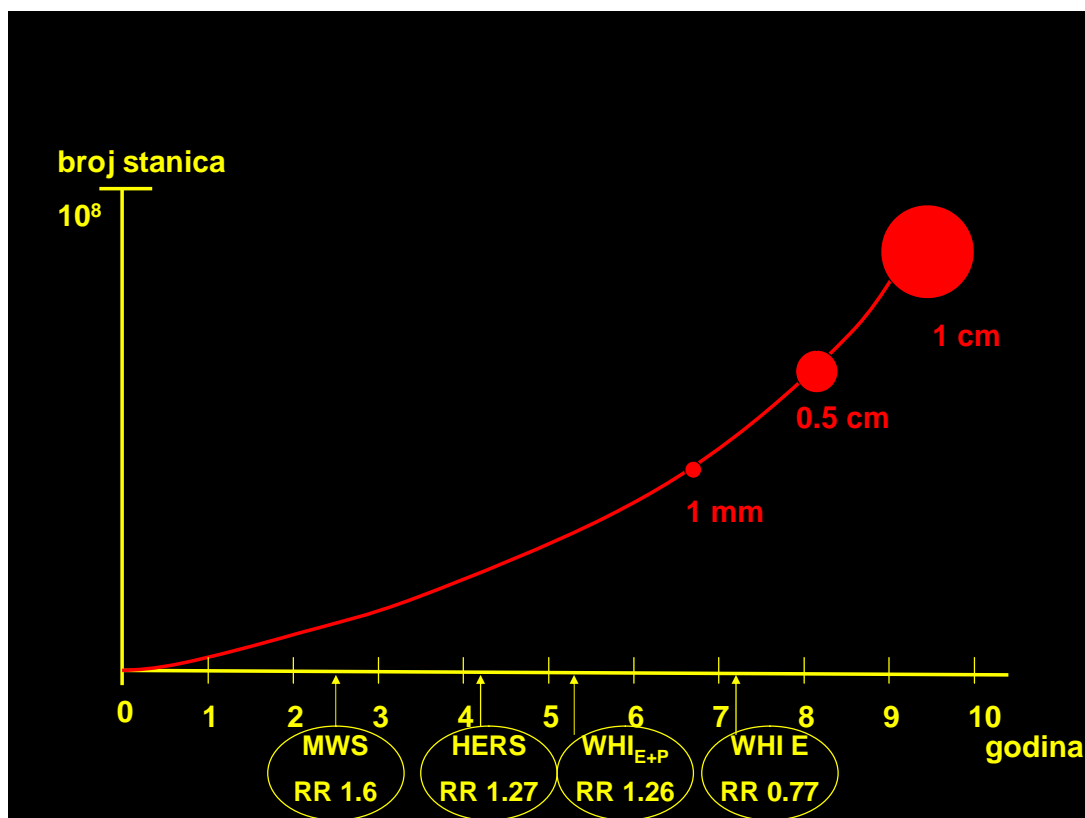
Slične rezultate dala je i nedavno objavljena velika opservacijska studija Million Women Study (42). Ona je pokazala da HNL bez obzira na vrstu povisuje RR za rak dojke na oko 1,60. Po tom istraživanju i tibolon stvara isti rizik. Rizik se povećava već nakon prve godine korištenja HNL, što je poznavajući onkogenezu raka dojke, velika zamjerka zaključcima MWS. Rezultati proizlaze vjerojatno iz opservacijskih biasa, a nisu inducirani s HNL.

Epidemiološka studija iz Francuske (43) na više od 4000 žena koje su koristile drugu vrstu HNL (transdermalna), utvrdila je da ona ne povisuje rizik za rak dojke – RR 0,93.

Našu zdvojnost o povezanosti HNL, steroidnih hormona i raka dojke još je više pojačalo nedavno objavljeno WHI istraživanje o utjecaju samo estrogena u žena u postmenopauzi (44). U 16 tisuća žena koje su uzimale samo estrogene (ENL) utvrđen je smanjeni rizik za rak dojke RR 0,77. To bi značilo da estrogeni djeluju zaštitno, a rizik povisuje dodatak gestagena.

Analizom dosadašnjih nalaza o HNL i riziku za rak dojke, neki autori [3,5,19] logikom nastoje nadoknaditi nepreciznost rezultata. Poznato je da rak dojke treba 10 godina rasta do 1 cm veličine. Nelogično je stoga i nemoguće da HNL u 2 do 5 godina inducira nastanak raka. Isto tako je nelogično da se već za 5 godina nakon prestanka HNL, rizik za rak izgubi.

Slika 12. Trajanje studije i rizik za rak dojke



Hormonsko nadomjesno liječenje u žena s liječenim rakom dojke

Korištenje HNL u žena koje su liječene zbog raka dojke svakako je najkontroverznije pitanje ovog područja. Godišnje od karcinoma dojke u Hrvatskoj oboli 1700-1800 žena, od kojih je 20% mlađe od 50 godina i čije je preživljenje 80-90%. Od liječenih bolesnica 90% ih ulazi u prijevremenu menopauzu, što rezultira padom kvalitete života, porastom rizika za KVB, osteoporozu i UGA. Postavlja se pitanje da li je HNL u tom slučaju dolijevanje ulja na vatru? Na njega nema jedinstvenog odgovora niti konsenzusa. Verheul je sabrao i proučio svu svjetsku relevantnu literaturu o tom problemu. Izdvojio je 15 najvažnijih studija i utvrdio da niti jedna nije pokazala progresiju bolesti uz HNL. Recidivi su se pojavili u 88 od 600 pacijentica koje su bile bez HNL (29,3%), a u 59 od 953 (6,2%) pacijentica koje su nakon liječenja raka dojke uzimale HNL. Takva bi analiza ukazala da HNL u preživjelih od raka dojke, reducira recidive i poboljšava prognozu [32]. Smrtni ishod češći je u pacijentica bez HNL [32].

DiSaia [32] je našao za 20% bolje preživljavanje u žena s rakom dojke koje su kasnije koristile HNL.

Većina autora koji se zalažu za HNL u žena s rakom dojke u anamnezi, koriste trajnu kombinaciju E+P koju započinju 5 (rjeđe 3) godina nakon liječenja. Neki uz HNL dodaju i SERM-ove (Tamoxifen).

Tablica 7. HNL u žena s rakom dojke

	HNL 1221 pacijentica	Bez HNL 2650 pacijentica
Praćenje	1-30 godina, 7 godina	1-30 godina
Recidiv	7,6%	11,7%
Smrt	2,8%	6,8%
Druga dojka	4,1%	4,0%
HNL	RR=0,58	za recidiv
	RR=0,31	za preživljenje

Prema dosadašnjim istraživanjima HNL ne povisuje smrtnost niti rizik za recidiv i kontralateralnu bolest, no ipak za taj odabir se preporučuje oprez i individualni pristup uz potpuno razumijevanje pacijentice. Preporuča se sa terapijom početi 3-5 godina nakon liječenja i to niskodozažnom kontinuiranom kombiniranom HNL. Uz pozitivne ER preporuča se kombinacija sa SERM-om, što ima potencirani tromboembolijski učinak. Ukoliko se definitivno dokaže neškodljivost HNL za liječeni rak dojke, a sadašnje spoznaje su takve, olakšao bi se izbor liječenja i hormonske nadoknade za te pacijentice. Brojnim mladim i izliječenim pacijenticama poboljšala bi se kvaliteta života i smanjili rizici KVB i osteoporoze.

Zaključci:

- HNL duže od 5 godina blago povisuje RR-1,2 – 1,4 za rak dojke. To je rizik od oko 0,5% ili kumulativno za 15 godina korištenja HNL iznosi 12%o više, nego u općoj populaciji žena. Čini se da HNL akcelerira rast postojećeg tumora, a ne inducira njihov nastanak. Taj RR je niži od onog što ga stvara alkoholizam i adipoznost
- HNL kraće od 5 godina i bivše korisnice HNL nemaju povišeni rizik za rak dojke. Svaki rizik se izgubi 5 godina nakon prekida HNL
- Niskodozažna HNL nosi još niži rizik za rak dojke
- Pozitivna obiteljska anamneza raka dojke ne povisuje dodatno rizik i to nije kontraindikacija za HNL
- Ranije benigne bolesti dojke niska kontraindikacija za HNL
- Nakon liječenja raka dojke s posebnim se oprezom može preporučiti HNL. Kada su pozitivni ER uz HNL se dodaje tamoxifen ili raloxifen. Potpuna sigurnost tu nije definitivno potvrđena
- Dosadašnja svjetska literatura ukazuje čak na zaštitnu ulogu HNL u žena s liječenim rakom dojke
- HNL povisuje denzitet MMG za 20 %

Literatura:

1. Šimunić V. Hormonsko nadomjesno liječenje i dojka-osvrt na mišljenje pristaša i argumente protivnika. U Bolesti dojke, HAZU, Zagreb, 2001..
2. LaVecchia C, Decarli A, Franceschi S et al: Alcohol consumption and risk of breast cancer in women. *J Natl Cancer Inst* 75:61, 1985
3. Thorneycroft H. I Breast cancer and estrogen replacement therapy; The Menopause, Comprehensive Management, Fourth Edition; Parthenon London, 2000.
4. Šimunić V. Klimakterij i postmenopauza; Ginekologija, Ljevak, Zagreb, 2001.
5. Speroff L. Postmenopausal hormone therapy and the risk of breast cancer; *Maturitas*, 1999.
6. Thomas H. T. J. Key T.J., Allen D. S., Moore J. W., Dowsett M., Fentiman I. S., Wang D. Y. A Prospective study of endogenous serum hormone concentrations and breast cancer risk in postmenopausal women on the island of Guernsey. *Brit J Cancer* 1997; 76:401-5
7. Tonolio P. G., Levitz Z., Zeleniuch -Jacquette A., Banerjee S., Koenig KL, Shore Re., Strax P., Pasternak B. S. A Prospective study of endogenous estrogens and breast cancer in postmenopausal women. *J Nat Cancer Inst* 1995; 87:190-7.
8. Cauley J. A., Lucas F., Kuller L. H., Stone K., Browner W., Cummings S. R., et al. Elevated serum estradiol and testosterone concentrations are associated with a high risk for breast cancer. *Ann Intern Med* 1999; 130:270-7
9. Marsden J., Sacks N. P. M. Hormone replacement therapy and breast cancer. *Endocr related Cancer* 1996; 3:81-97
10. Beral T.J. Collaborative group on hormonal factors in breast cancer: Breast cancer and hormonal contraceptives: collaborative reanalysis on individual data on 53 297 women with breast cancer and 100 239 women without breast cancer from 54 epidemiological studies. *Lancet* 1996; 347:1713-27
11. Collaborative group on Hormonal Factors in Breast Cancer. Breast cancer and hormone replacement therapy: collaborative analysis of data from 51 epidemiological studies of 52 705 women with breast cancer and 108,411 women without breast cancer: *Lancet* 1997; 350: 1047-59.
12. Jerheul H. A. M. I., Coelingh-Bennink H. J. T, Kenemans P., Atsma WJ., Burger C. W, Eden J. A, Hammar M, Marsden J., Purdie D. W.. Effect of estrogens and hormone replacement therapy on breast cancer risk and on efficiency of breast cancer therapies; *Maturitas* (2000) 26 1-17.
13. Nachtigall M. J, Smilen S. W, Nachtigall R. D, Nachtigall R. H, Nachtigall L. E. Incidence of breast cancer- in a 22 year study of women receiving estrogen replacement therapy. *Obstet Gynecol* 1992; 80:827-30.
14. Colditz G. A, Hankinson S. E, Hunter D. J, et al. The use of estrogens and progestins and the risk of breast cancer in postmenopausal women. *New Engl, j Med* 1995; 332:1589.
15. Kaufman D. W., Palmer J. R., De Mouzon J., et al. Estrogen replacement therapy and the risk of breast cancer: results from the case-control surveillance study: *Am J Epidemiol* 1991; 134:1379-85.
16. Palmer J. R., Rosenberg L., Clarke E. A., Miller D. R., Shapiro S. Breast cancer risk after estrogen replacement therapy: results from the Toronto Breast Cancer Study. *Am J Epidemiol* 1991; 134:1386-95.
17. Stanford J.L., Weiss N. S., Voigt L. F., Daling J. R., Habel L. A., Rossing MA. Combined estrogen and progestin hormone replacement therapy in relation to risk of breast cancer- in middleaged women. *J Am Med Assoc* 1995; 274:137.
18. Gapstur Sin, P -biter. D., Sellers T, A., Folsoin A. R. Increased risk of breast cancer with alcohol consumption in postmenopausal women. *Am J epidemiol* 1992; 136:1221-31.
19. Newcomb P A., Longnecker M. P., Storer B. E., et al. Longterm hormone replacement therapy and risk of breast cancer in postmenopausal women. *Am J Epidemiol* 1995; 142:788-95.
20. Persson i, Weierpass E, Bergkvist L, Bergstrom R, Schaiter C. Risks of breast and endometrial cancer after estrogen and estrogen/progestin replacement. *Cancer Causes Control* 1999;
21. Burch J. C., Byrd B. F., Vaughn W, K. results of estrogen treatment in one thousand hysterectomized women for 14318 years. In: Ilan Keep PA, Greenblatt RB, Albeauxfernet m, editors. Consensus on menopause research. Lancaster: MTP press, 1976: 164-9.

22. Rafael C., Daniel M.1 .. L. Prognosis of breast cancers detected in women receiving hormone replacement therapy; *Maturitas*, 2001;38/2,.
23. Bonnier P., Romain S., Glacalone PL., et al. Clinical and biological prognostic factors in breast cancer diagnosed during postmenopausal hormone replacement therapy. *Obstet gynecol* 1995; 85:11-7.
24. Harding C., Knox W. F., Faragher E. B., et al. Hormone replacement therapy and tumour grade in breast cancer: prospective study in screening unit. *Brit Med J* 1996; 312:1646-7.
25. Magnusson C., Holmberg L., Norten T., et al. Prognostic characteristic in breast cancer after hormone-replacement therapy. *Breast cancer Res treat* 1996; 38:325-34.
26. Bonnier P., Bessenay F. Sasco A. J., et al. Impact of menopausal hormone-replacement therapy on clinical and laboratory characteristic of breast cancer. *Int J Cancer* 1998; 79(3): 278-82.
27. Dupont W. D., Page D. L., Parl E F, l'uinmer W, D., Schuyler P. A., Kasani M., Jensen R. A. Estrogen replacemetrt therapy in women with a history of proliferative breast disease. *Cancer* 1999; 85:1277-83.
28. Disaia P. I, Grosen E. A., Kurosaki L. et al Homone replacement therapy in breast cancer survivors: a cohort study. *Am j Obstet Gynecol* 1996;174:1494-8.
29. Hulka B.S., Moorman P.G.. Breast cancer: hormones and other risk factors; *Maturitas* 38;2001:103-116.
30. Bush TL., Whiteman M., Flaws JD. Hormone Replacement Therapy and Breast Cancer: A qualitative Review. *Obstet Gynecol* 2001;98:498-508.
31. Genazzani et al *Maturitas* 2001, 38/2:100-3.
32. Disaia P. I., Grosen E. A., Kurosaki T., Gildea M., Cowan B., Anton Culver H. Hormone replacement therapy in breast cancer survivors: a cohort study. *Am J Obstet Gynecol* 1996;17:1494-9.
33. Dew J., Eden J., Beller E., Margarey C., Schwartz P., Crea P., Wiren B. A cohort study of hormone replacement. therapy given to women previously treated for breast cancer. *Climacteric* 1998; 1:137-42.
34. Becknzann M. W., Mohrmann T., Kuschel B., Dadze A., Mohrrmann S., Dall P. et. al. Hormone replacement therapy (HRT) after breast cancer treatment: results from an observational study. *Geburtsh U Frauenheilk* 1998;58:193-6.
35. Ross RK, Paganini-Hilla, Wan P. C., Pike M. C. Effect of hormone replacement therapy on breast cancer risk: estrogen versus estrogen plus progestin. *J. Natl Cancer Inst* 2000;4:328-32.
36. Matkovic V. Mamografske promjene u žena tijekom hormonskog nadomjesnog liječenja; Magistarski rad, Zagreb, 2000.
37. Šimunic, V., Grizelj V. Hormonska kontracepcija i rak dojke: Šesti znanstveni sastanak bolesti dojke- Zbornik radova; Zagreb, 1996.
38. Šimunić V., Ciglar S, Pavičić Baldani D.: Klimakterij i postmenopauza: hormonsko nadomjesno liječenje. FotoSoft, 2002.
39. Hulley S, Grady D, Bush T, Furberg C, Herrington D, Riggs B, et al. Randomized trial of estrogen plus progestin for secondary prevention of coronary heart disease in postmenopausal women. Heart and Estrogen/progestin Replacement Study (HERS) Research Group, *JAMA* 1998;280:605-13.
40. 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;288-321-33.
41. Chlebowski RT, Hendrix SL, Langer RD, Stefanick ML, Gass M, Lane D, 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.
42. Beral V and Million Women Study Collaborators. Breast cancer and hormone-replacement therapy in the Million Women Study. *Lancet* 2003;362:419-27.
43. Ligneres et al.: French-cohort Study.
44. The Women's Health Initiative Steering Committee: Effects of Conjugated Equine Estrogen in Postmenopausal Women With Hysterectomy: the Women's Health Initiative Randomized Controlled Trial. *JAMA*, 2004;291:1701-1712.