

## Œstrogènes et athérosclérose : données récentes et perspectives

Jean-François Arnal  
Rima Elhage  
Arlette Maret  
Jacques Rami  
Jean-Charles Faye  
Francis Bayard

L'effet cardioprotecteur des œstrogènes est assez bien documenté mais son mécanisme n'est pas encore clair. L'amélioration du profil lipidique sérique des femmes sous traitement substitutif de la ménopause compte pour moins de la moitié de l'effet. Ce sont les trois populations cellulaires constitutives de la paroi vasculaire (cellules endothéliales, cellules musculaires lisses, lymphocytes et macrophages) qui constituent les cibles principales des œstrogènes, du fait de la présence de récepteurs des œstrogènes dans chacune d'entre elles, en particulier de récepteurs ER $\beta$ . Dans la paroi vasculaire saine, les œstrogènes induisent l'activité de facteurs à action paracrine, tels que des cytokines et des facteurs vasoactifs, essentiellement le monoxyde d'azote. L'expression de ces facteurs est aussi modifiée par les œstrogènes dans les conditions de *stress* physiologique (cisaillement) ou pathologique (athérosclérose, ballon d'angioplastie).

L'effet des œstrogènes sur l'appareil cardiovasculaire suscite un intérêt grandissant en raison de leur possible effet athéroprotecteur. Pourtant, seul le résultat des études contrôlées (randomisées\*) et prospectives en cours sur l'efficacité du traitement substitutif des femmes ménopausées pourra confirmer cet effet. Pour l'instant, nous disposons seulement de données épidémiologiques qui suggèrent que les œstrogènes diminuent le risque de compli-

cations liées à l'athérosclérose [1]. Mais les mécanismes par lesquels les œstrogènes protègent de l'athérosclérose sont inconnus. L'amélioration du profil lipidique, initialement considérée comme facteur essentiel, n'expliquerait en fait que partiellement l'effet protecteur. Les cellules de la paroi vasculaire pourraient donc représenter la cible principale des œstrogènes, ce que suggèrent à la fois des travaux expérimentaux et cliniques. Les œstrogènes offrent ainsi la possibilité de mettre à jour de nouveaux mécanismes d'athéroprotection, et donc de nouvelles voies thérapeutiques.

### ADRESSES

J.F. Arnal : maître de conférences, praticien hospitalier. R. Elhage : doctorante. A. Maret : chargée de recherche à l'Inserm. J. Rami : maître de conférences, praticien hospitalier. J.C. Faye : directeur de recherche à l'Inserm. F. Bayard : professeur des universités. Inserm U. 397, Institut Louis-Bugnard, CHU Rangueil, Bât. L3, 1, avenue J.-Poulhès, 31403 Toulouse Cedex 4, France.

\* Les individus répartis dans divers groupes témoins et groupes traités sont tirés au sort (at random).

## Récepteurs des œstrogènes dans les cellules de la paroi vasculaire

Les mécanismes par lesquels l'œstradiol relaie ses activités biologiques ont fait l'objet de très nombreux travaux depuis la mise en évidence de son récepteur spécifique (ER) dans les tissus cibles traditionnels concernés par la reproduction. En l'absence d'hormone, ce récepteur, membre de la superfamille des récepteurs nucléaires, est intégré au sein d'un complexe constitué de protéines de choc thermique et d'immunophilines. La liaison de l'hormone entraîne des modifications conformationnelles, provoquant la dissociation du complexe, l'homodimérisation des récepteurs qui deviennent alors capables de se lier aux séquences d'ADN spécifiques que sont les ERE (*estrogen responsive elements*) et/ou d'interagir avec d'autres co-activateurs de la transcription [2]. Il en résulte une modification du niveau de transcription d'une série de gènes, de la concentration cellulaire de leurs ARN messagers, enfin des concentrations des protéines pour lesquelles ils codent.

Jusqu'ici, une seule forme de ER avait été détectée (ER $\alpha$ ) [3] mais une deuxième forme vient d'être identifiée (ER $\beta$ ) [4]. Ces deux récepteurs présentent 96 % d'identité dans le domaine de liaison à l'ADN, 60 % dans le domaine de liaison de l'hormone mais pratiquement aucune similitude dans la portion amino-terminale, domaine particulièrement impliqué dans la régulation des activités transcriptionnelles. ER $\alpha$  et ER $\beta$  lient l'œstradiol avec une affinité comparable (Kd = 0,2-0,5 nM) mais la spécificité de liaison d'analogues, tels que les phyto-œstrogènes ou les anti-œstrogènes (tamoxifène) n'est pas la même, suggérant des activités et une pharmacologie différentes (*m/s 1998, n° 1, p. 99*). Selon certains auteurs, ils sont exprimés dans le tissu vasculaire et une hétérogénéité d'expression selon les territoires vasculaires et selon le sexe a même été rapportée [6]. Pour notre part, nous n'avons pas été capables de détecter de façon reproductible une activité de liaison de l'œstradiol radioactif dans des homogénats de paroi artérielle ou de popu-

lations cellulaires endothéliales ou musculaires lisses en culture. Nous n'avons pas été en mesure non plus de caractériser une immunoréactivité spécifique de ER $\alpha$  sur coupe histologique. En revanche, nous avons pu vérifier la présence de ER $\alpha$  (par immunocytochimie) [7] et de l'ARNm de ER $\beta$  par RT-PCR, données non publiées dans les cellules endothéliales et musculaires lisses en culture. Dans ces mêmes cellules, il existe des activités aromatasase et 17 $\beta$ -déshydrogénase capables, si elles sont aussi présentes *in vivo*, d'engendrer *in situ* des concentrations d'œstradiol et d'œstrone indépendantes des concentrations circulantes. L'ensemble de ces observations suggère que l'effet athéroprotecteur de l'œstradiol pourrait être relayé par le mécanisme d'action, dit « génomique » des hormones stéroïdes. Mais, parallèlement et de manière encore confuse, sont évoqués d'autres mécanismes, dits « extragénomiques », faisant intervenir d'hypothétiques récepteurs de membranes ou canaux ioniques, non caractérisés jusqu'ici. Cette possibilité doit être démontrée mais doit aussi être gardée en mémoire dans l'interprétation des phénomènes biologiques induits par l'œstradiol dans la paroi vasculaire.

## Œstrogènes et physiologie de l'artère saine

L'état de contraction des cellules musculaires lisses, qui détermine le calibre et le débit artériel, dépend à chaque instant des influences vasoconstrictrices et vasodilatatrices. L'imprégnation œstrogénique peut modifier la réactivité aux substances vasoconstrictrices. Des doses pharmacologiques d'œstrogènes (de l'ordre de 1 mg/kg/j) diminuent la réponse contractile d'aorte de rat à l'angiotensine II, tandis qu'elles augmentent la réponse contractile de l'aorte de rat ou de lapin à la noradrénaline [8, 9]. En revanche, des doses physiologiques correspondant aux taux de production pendant le cycle (2  $\mu$ g/kg/j) ou de l'ordre de celles atteintes en fin de gestation (40  $\mu$ g/kg/j) n'altèrent pas la réactivité adrénérique de l'aorte du rat ou du lapin. Ces différences mettent en évidence le fait que l'activité des

œstrogènes varie en fonction de la dose utilisée. Les résultats des travaux expérimentaux ou cliniques doivent être interprétés en fonction de ce paramètre. Pourtant, dans la littérature, des doses pharmacologiques (=  $\mu$ M voire davantage) sont souvent employées. A ces doses, les œstrogènes peuvent développer des propriétés, anti-oxydantes par exemple, liées à leur structure chimique, indépendantes de l'activation des récepteurs.

L'endothélium produit des facteurs paracrines qui modulent le tonus et la prolifération des cellules musculaires lisses sous-jacentes. Parmi ces facteurs, on considère actuellement que l'activité *endothelium-derived relaxing factor* (EDRF), c'est-à-dire la biodisponibilité de NO, et à un moindre degré la prostacycline, sont responsables de l'essentiel de la relaxation des artères (vasodilatation) dépendante de l'endothélium. Gisclard *et al.* [10] ont démontré les premiers, il y a maintenant dix ans, que l'administration d'œstradiol à des lapines castrées augmentait la relaxation dépendante de l'endothélium de l'artère fémorale. Cette augmentation de la biodisponibilité de NO sous l'effet des œstrogènes a ensuite été retrouvée dans d'autres espèces animales (rat, cochon d'Inde, cochon) et au niveau d'autres artères (aorte, artère coronaire...). Nous avons précédemment détaillé les mécanismes par lesquels les œstrogènes augmentent cette biodisponibilité au niveau des vaisseaux [11]. En résumé, il apparaît qu'elle ne résulte pas d'une augmentation de la production de NO, mais plutôt d'une moindre dégradation de NO, secondaire à une diminution de la génération d'anions superoxydes par l'endothélium. Cet effet est observé après exposition à des doses physiologiques d'œstradiol pendant au moins 24 heures [12]. L'accroissement de la biodisponibilité de NO pourrait aussi expliquer, au moins en partie, la diminution de la prolifération des cellules musculaires lisses; elle pourrait jouer un rôle dans les phénomènes de régénération de l'endothélium dans les expériences de désendothélialisation et les phénomènes d'angiogenèse. Le NO pourrait également inhiber l'adhérence et l'agrégation plaquettaire, l'adhérence des monocytes (*figure 1*). La diminu-

tion de la production des espèces réactives de l'oxygène pourrait, quant à elle, diminuer les processus d'oxydation des lipoprotéines athérogènes (*low density lipoproteins*, LDL). Parmi les lipides engendrés à cette étape d'oxydation, la lysophosphatidylcholine est un puissant agent pro-inflammatoire, capable d'induire la production de chimiokines et les molécules d'adhérence leucocytaire au pôle apical des cellules endothéliales.

D'autres mécanismes pourraient contribuer aux variations de réactivité vasculaire sous l'effet des œstrogènes. Ainsi, la production de dérivés de l'acide arachidonique peut être modifiée: l'augmentation de la production de dérivés vasorelaxants a été rapportée dans certains modèles, tandis que l'augmentation de la production de dérivés vasoconstricteurs a été rapportée dans d'autres [8]. Cependant, l'inhibition de la voie de la cyclooxygénase n'abolit pas l'augmentation par l'œstradiol de la relaxation dépendante de l'endothélium, suggérant que la potentialisation de l'effet vasorelaxant des œstrogènes ne dépend pas de cette voie [8, 10]. Enfin, l'administration intrartérielle d'œstradiol provoque une vasodilatation en 10 à 20 minutes, qui peut être prévenue par un inhibiteur de NO synthase [13]. Chez la femme ménopausée, plusieurs études ont montré l'effet bénéfique de l'admini-

nistration aiguë d'œstradiol sur la vasomotricité coronaire et des vaisseaux de l'avant-bras [14]. Les mécanismes moléculaires de cette vasodilatation dépendante du NO, favorisée par l'administration aiguë d'œstradiol, sont actuellement inconnus. La preuve de la persistance de cet effet au long cours n'a pas été apportée.

Une augmentation de la vasodilatation dépendante de l'endothélium a aussi été mise en évidence au cours de la gestation [15]. Initialement attribué à l'œstradiol, il est probable que cet effet fasse intervenir des facteurs hémodynamiques. En fin de gestation, le débit sanguin de l'utérus est multiplié par 35, et le débit cardiaque est aussi augmenté. Or, l'augmentation des forces de cisaillement de l'endothélium qui accompagne l'augmentation de débit, constitue le principal stimulus de l'expression de la NO synthase endothéliale [15]. Les œstrogènes augmentent l'expression de la NO synthase neuronale mais ne semblent pas régler l'expression de la NO synthase endothéliale des artères de la grande circulation [12, 15]. En revanche, au niveau de l'endothélium de l'artère pulmonaire du fœtus, l'œstradiol augmente à la fois l'expression et l'activité de la NO synthase endothéliale, ce qui pourrait contribuer à optimiser la vaso-

dilatation de la circulation pulmonaire à la naissance [16].

### Effets de l'œstradiol sur les cellules du système immuno-inflammatoire

Il est bien établi que les cellules monocytaires, lymphocytes et monocytes éventuellement différenciés en macrophages, font partie des populations cellulaires retrouvées dans la paroi artérielle normale et surtout pathologique. Ces cellules monocytaires constituent des cibles potentielles des hormones œstrogènes. En fait, plusieurs travaux ont montré le bouleversement des populations lymphocytaires induit par un traitement œstrogénique, avec induction d'un profil lymphocytaire T CD4<sup>+</sup> de type Th1 et une production accrue d'immunoglobulines de type IgG [17]. L'action sur les monocytes/macrophages a pour résultat une diminution de la production des cytokines IL-1, TNF $\alpha$ , IL-6 [18] et de chimiokines, telle que MCP-1 [19], une diminution de la production des espèces réactives de l'oxygène, une augmentation de l'expression de l'urokinase [20]. L'implication fonctionnelle de ces multiples perturbations n'est pas claire et nécessite des travaux complémentaires. Nous avons récemment pu mettre en évidence des modifications du métabolisme lipidique, constituées par la stimulation de la 27-hydroxylation du cholestérol capable d'engendrer le 27-hydroxycholestérol et l'acide  $\beta$ -hydroxy-5-cholesténoïque, premiers métabolites sur la voie de synthèse des acides biliaires [21] et une élévation des concentrations cellulaires des phospholipides, en particulier des phosphatidylcholines. Des relations existent vraisemblablement entre les modifications du métabolisme des lipides cellulaires, la production des espèces réactives de l'oxygène et la régulation de la production des cytokines (figure 2).

### Œstrogènes et cicatrisation de la paroi artérielle

On peut schématiser, de façon caricaturale, trois grands types d'agression de la paroi artérielle. L'agres-

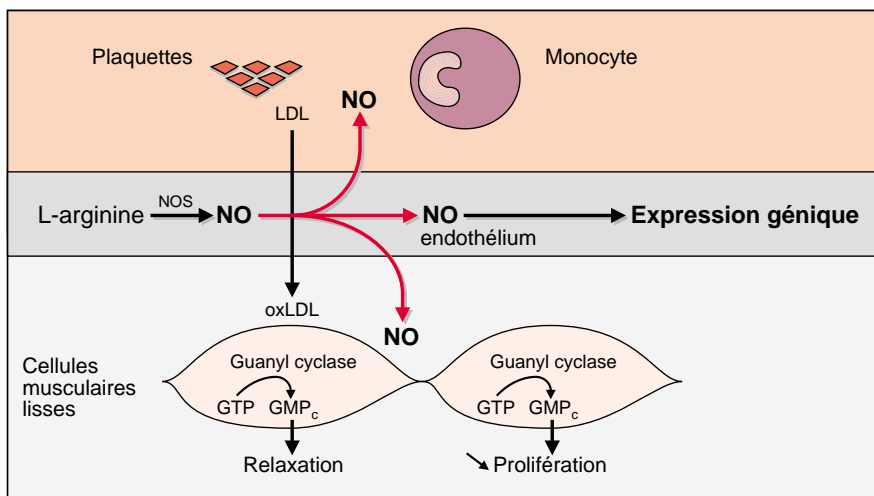


Figure 1. **Activités biologiques du NO.** Relaxation et inhibition de la prolifération des cellules musculaires lisses, diminution de l'adhérence et de l'agrégation plaquettaire et de l'adhérence des monocytes, régulation de l'expression des gènes, des cytokines inflammatoires en particulier, avec diminution de l'activité transcriptionnelle dépendante de NF $\kappa$ B. NOSe: NO synthase endothéliale; LDL: low density lipoproteins; LDLox: LDL oxydées.

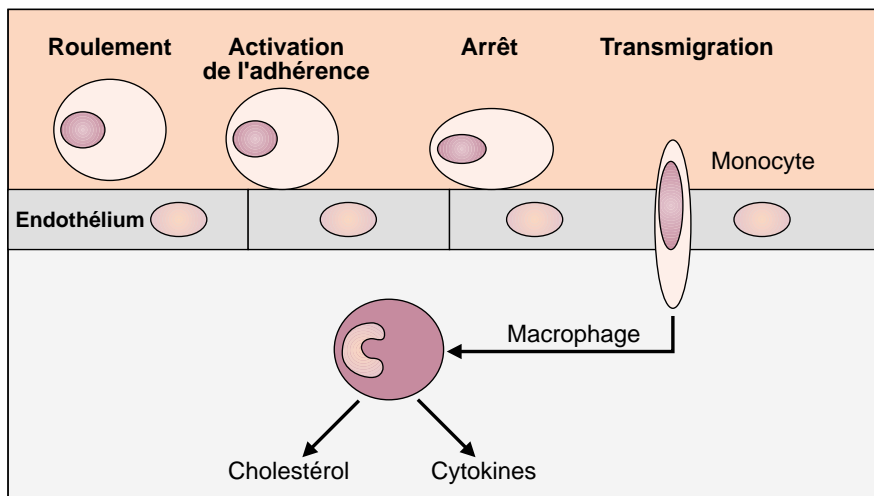


Figure 2. **Cibles potentielles de l'œstradiol dans les étapes de pénétration et de différenciation des monocytes en macrophages dans l'espace sous-intimal.** L'influence sur le mécanisme de pénétration peut résulter d'une action sur les monocytes ou sur les cellules endothéliales. Après différenciation des macrophages, l'œstradiol peut influencer la production de cytokines et/ou faciliter l'élimination du cholestérol, limitant ainsi son accumulation dans les cellules spumeuses et la constitution de stries lipidiques.

sion « physiologique » résulte de l'écoulement non laminaire du sang, dont le siège coïncide en général avec celui des stries lipidiques. Sous l'effet de cette agression, le *turn-over* des cellules endothéliales est accru, ce dont témoigne le raccourcissement des télomères des chromosomes [22]. On ignore si ce processus est influencé par les œstrogènes. L'agression « athéromateuse » est secondaire à la pénétration, la prolifération et la transformation des monocytes en macrophages capables d'entretenir un processus inflammatoire local, d'accumuler des LDL oxydées (toxiques pour les cellules) pour devenir des cellules spumeuses et constituer la strie lipidique. Cette situation pourrait favoriser l'apoptose des cellules endothéliales sus-jacentes à la strie que l'œstradiol pourrait prévenir [23]. Pour notre part, nous n'avons pas pu mettre en évidence d'effet protecteur de l'œstradiol vis-à-vis de l'apoptose de cellules endothéliales exposées à des LDL oxydées en culture. L'agression « thérapeutique » enfin, est représentée par l'angioplastie endoluminale, qui consiste à écraser une plaque d'athérome à l'aide d'un ballonnet afin de rétablir la lumière artérielle et un débit sanguin normal. Le traitement local des rétrécissements athérosclérotiques repose

actuellement sur ce geste endovasculaire. Les résultats sont bons à moyen terme dans environ 70 % des cas. Dans 30 % des cas l'angioplastie se complique d'une resténose dans les mois qui suivent le geste opératoire. Cette resténose peut cependant être prévenue par la mise en place d'une prothèse métallique grillagée (*stent*). L'agression « thérapeutique » a longtemps été modélisée par la « ballonnisation » de la carotide primitive du rat. Ce geste, qui consiste à désendothélialiser et à traumatiser la média de l'artère, provoque en quelques semaines une prolifération néointimale de cellules musculaires lisses à l'origine d'un rétrécissement du calibre artériel. La réendothélialisation n'est le plus souvent que partielle. Dans ce modèle, l'œstradiol accélère la réendothélialisation et prévient la prolifération néo-intimale par un mécanisme qui pourrait faire intervenir le récepteur ER $\beta$  [24]. L'œstradiol pourrait ainsi prévenir la survenue des resténoses, comme le suggère une étude rétrospective récente faisant état d'une moindre fréquence de resténose chez les femmes bénéficiant d'un traitement substitutif après la ménopause [25]. Cependant, l'œstradiol n'exerce plus d'effet bénéfique lorsque l'on « ballonne » une artère pathologique, chez

des lapins soumis à un régime riche en cholestérol par exemple, ce qui constitue probablement un meilleur modèle de l'angioplastie endoluminale réalisée en clinique. Dans ces conditions, l'œstradiol reste pourtant capable de prévenir le développement de stries lipidiques sur l'artère controlatérale qui n'a pas subi de traumatisme mécanique.

## Œstrogènes et physiopathologie de l'athérosclérose

Première cause de mortalité dans les pays occidentaux, l'incidence de l'athérosclérose croît avec l'âge et présente un profil différent chez l'homme et chez la femme. L'incidence féminine est le tiers de l'incidence masculine avant l'âge de 55 ans mais ces incidences se rejoignent à l'âge de 75 ans. Cette évolution suggère l'implication des hormones sexuelles et, en particulier des œstrogènes. Les différentes phases de l'évolution de la plaque d'athérosclérose ont été bien décrites sur le plan anatomopathologique et nous les avons résumées précédemment [11]. Les modèles animaux, lapin, porc, singe, souris soumises à un régime riche en cholestérol [26-30] et plus récemment souris génétiquement modifiées par la technique de recombinaison homologue [31], constituent de bons modèles d'étude du développement de l'athérosclérose et de l'effet protecteur des œstrogènes. Chez les souris déficientes en apolipoprotéine E, le traitement par l'œstradiol diminue l'apparition de lésions d'athérosclérose de façon très significative [31, 32] et nous avons observé que des concentrations d'œstradiol atteintes au cours de la période de gestation sont nécessaires pour obtenir cet effet athéroprotecteur.

Les hormones œstrogènes sont susceptibles d'intervenir à tous les niveaux du développement de la maladie athéroscléreuse. Elles exercent un effet bénéfique sur la cholestérolémie et le profil lipidique mais la paroi artérielle constitue apparemment la cible essentielle [32]. A ce niveau, ces hormones pourraient agir sur la perméabilité de la barrière endothéliale par leur capacité de stimuler la prolifération de l'endothé-



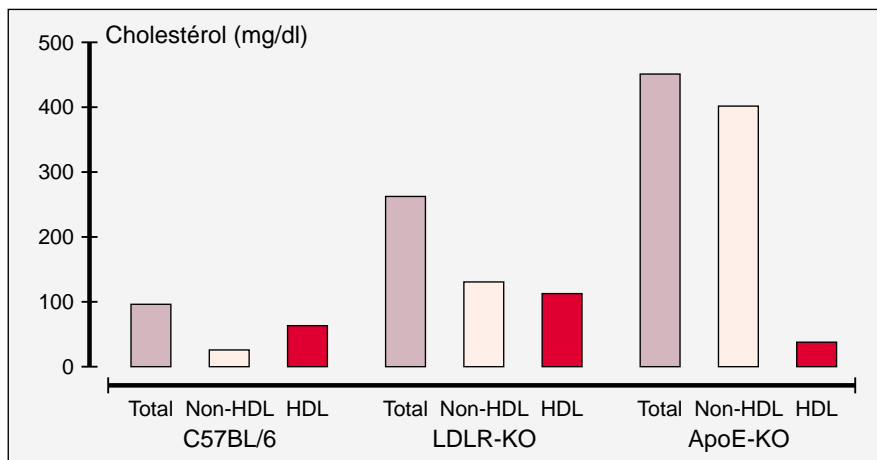


Figure 3. **Modèles murins d'athérosclérose.** Ce diagramme montre la concentration des lipoprotéines sériques athérogènes (non-HDL) ou anti-athérogènes (HDL) chez la souris contrôle C57BL/6 qui ne développe pas de dépôts lipidiques spontanés, la souris déficiente en récepteur des lipoprotéines athérogènes (LDLR-KO) qui développe spontanément des dépôts lipidiques modérés et la souris déficiente en apolipoprotéine E (ApoE-KO) qui développe des dépôts lipidiques capables de progresser jusqu'à la constitution de plaques fibreuses.

lium lésé. En effet, l'altération de l'intégrité endothéliale constitue un facteur capital de pénétration des lipoprotéines dans l'espace sous-intimal des régions à bas degré de cisaillement endothélial. L'action anti-oxydante peut également diminuer la production des LDL oxydées et la cascade de signaux qu'elles induisent. Les œstrogènes induisent surtout l'augmentation de la biodisponibilité de NO et des activités vasorelaxantes, anti-agrégantes et anti-inflammatoires maximales. Dans des vaisseaux atteints d'athérosclérose, l'administration intra-artérielle d'acétylcholine ne provoque pas de vasodilatation et peut même entraîner une vasoconstriction. Les mécanismes de cette « dysfonction » endothéliale sont complexes, et sont probablement la conséquence à la fois d'une anomalie de production de NO et d'une dégradation augmentée de NO secondaire à la production accrue d'anions superoxydes [33]. L'effet de l'administration substitutive d'œstradiol à des guenons ovariectomisées et soumises à un régime athérogène prévient l'apparition de la dysfonction endothéliale. Cet effet bénéfique des œstrogènes n'est pas altéré par l'ajout de progestérone, mais il est aboli par celui de médroxyprogestérone [34]. Enfin, la

diminution de la prolifération et de la migration des cellules musculaires lisses, directe ou résultat de l'augmentation locale de la biodisponibilité de NO, joue également un rôle bénéfique [35]. Chez le lapin hypercholestérolémique, le blocage des NO synthases accélère le dépôt lipidique et diminue l'effet protecteur de l'œstradiol [36]. En revanche, chez les souris déficientes en apolipoprotéine E, l'inhibition de la production de NO entre l'âge de 1 et 3 mois n'aggrave pas le dépôt lipidique, et ne modifie pas l'effet protecteur de l'œstradiol [37]. Nous n'avons pas d'explication – âge des animaux lors de l'administration, spécificité d'espèce ou résultat de la manipulation génétique – pour cette différence qu'il conviendra d'analyser précisément.

Les modèles de souris ont également permis de démontrer le rôle important de l'inflammation sur l'évolution du processus athéromateux [38]. Plus particulièrement, le déficit en M-CSF (*monocyte-macrophage-colony stimulating factor*) et donc en monocytes-macrophages prévient de façon impressionnante le développement de la strie lipidique, et cela malgré une majoration de l'hypercholestérolémie [39]. La principale population cellulaire cible des œstrogènes impli-

quée dans la prévention du développement de la strie lipidique pourrait être constituée par les cellules mononucléées du système immuno-inflammatoire et nous avons rappelé plus haut la série des effets induits par ces hormones. L'implication de ce système est susceptible de donner une explication au paradoxe apparent entre effet athéroprotecteur des œstrogènes et dimorphisme sexuel de la réponse immunitaire, la femelle présentant une plus forte réactivité et une plus grande susceptibilité aux affections auto-immunes. Les œstrogènes modifient en effet l'équilibre lymphocytaire, augmentent l'activité *T helper/inducer*, diminuent l'activité *suppressor/cytotoxic* et modulent enfin la production de cytokines, IL-1, TNF $\alpha$ , IL-6 [18], interféron  $\gamma$  [19]... La place respective des populations lymphocytaires et des monocytes/macrophages reste à définir.

Ainsi, les modèles animaux permettent de bien étudier l'effet protecteur des œstrogènes sur la constitution de la strie lipidique. Cependant, ils se sont révélés jusqu'ici insuffisants pour l'analyse des effets sur les plaques plus avancées, tout particulièrement les plaques instables génératrices des complications thromboemboliques ultérieures (les souris déficientes en apolipoprotéine E, par exemple, ne présentent pas d'accidents ischémiques aigus). On peut émettre l'hypothèse que les facteurs impliqués dans la constitution des stries le sont également au stade des complications de la plaque. De fait, le rôle des macrophages apparaît particulièrement important dans la déstabilisation de la plaque. Cette hypothèse reste cependant à vérifier. Les modèles expérimentaux animaux et de cultures cellulaires permettent aussi d'envisager des études pharmacologiques destinées à répondre aux risques carcinologiques de l'utilisation des hormones œstrogènes, en particulier cancer de l'endomètre et, à un moindre degré du sein, et à la possibilité d'utiliser ces traitements chez l'homme. Il existe une sélectivité tissulaire de l'action des complexes récepteurs des œstrogènes-ligands, contrôlée par des molécules co-activatrices ou co-répressives qui modifient les interactions des ER $\alpha$  et  $\beta$  avec différents éléments de réponse de l'ADN ou des protéines

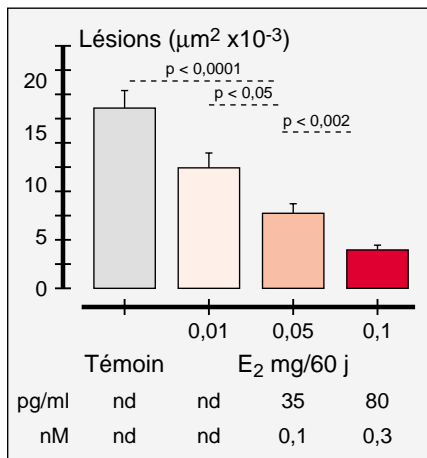


Figure 4. **Effet de l'œstradiol sur la constitution des dépôts lipidiques chez la souris déficiente en apolipoprotéine E.** La surface des dépôts lipidiques est appréciée dans la région du sinus aortique. L'œstradiol est administré en libération lente (sur 60 jours) à partir de comprimés (mg d'œstradiol) sous-cutanés capables de libérer la quantité donnée en abscisse sur une période de 2 mois. Les concentrations sériques d'E<sub>2</sub> (en pg/ml et en nM) sont indiquées en abscisse. nd: non détectable.

des complexes transcriptionnels modulant ainsi leur activité. C'est probablement par le mécanisme d'interaction entre récepteurs et complexes transcriptionnels que peut s'expliquer le développement d'activités agonistes partielles par des molécules initialement conçues comme agents antagonistes des activités œstrogéniques [40]. De fait, des données épidémiologiques avaient suggéré antérieurement que, de façon inattendue, le tamoxifène, antagoniste des œstrogènes utilisé en cancérologie, diminue l'incidence de l'infarctus du myocarde chez les patientes recevant ce traitement [41]. Ces observations ont été confirmées par l'expérimentation animale. L'administration de tamoxifène prévient de façon nette le dépôt lipidique [42]. Cependant, il induit aussi une augmentation du poids de l'utérus et, chez la femme, des cancers de l'endomètre. De ce fait, d'autres molécules, telles que le raloxifène (*m/s* 1996, n° 12, p. 1426) [43], le droloxifène [44] ou le levorméloxifène [45] sont à l'étude, susceptibles

d'exercer un effet athéroprotecteur tout en restant inactives sur l'utérus.

## Conclusions

Au cours de ces dernières années, d'importants progrès ont été accomplis, en particulier grâce à l'utilisation judicieuse des modèles animaux. Il semble raisonnable de prédire que, dans ces modèles, la cible prioritaire de l'activité athéroprotectrice des œstrogènes sera définie dans un proche avenir. Ces données devront, ensuite, être vérifiées dans l'espèce humaine. Cette définition ne résoudra certainement pas tous les problèmes de la maladie athéromateuse mais elle donnera les bases scientifiques, qui font actuellement défaut, aux propositions thérapeutiques faites quotidiennement aux patientes ■

## RÉFÉRENCES

- Grodstein F, Stampfer MJ, Colditz GA, *et al.* Postmenopausal hormone therapy and mortality. *N Engl J Med* 1997; 336: 1769-75.
- Janknecht R, Hunter T. Transcription. A growing coactivator network. *Nature* 1996; 383: 22-3.
- Green S, Walter P, Kumar V, Krust A, Bornert JM, Argos P, Chambon P. Human oestrogen receptor cDNA: sequence, expression and homology to v-erb-A. *Nature* 1986; 320: 134-9.
- Kuiper GG, Enmark E, Peltö-Huikko M, Nilsson S, Gustafsson JA. Cloning of a novel receptor expressed in rat prostate and ovary. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 5925-30.
- Grese TA, Sluka JP, Bryant HU, *et al.* Molecular determinants of tissue selectivity in estrogen receptor modulators. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94 (25): 14105-10.
- Losordo DW, Kearney M, Kim EA, Jekanski J, Isner JM. Variable expression of the estrogen receptor in normal and atherosclerotic coronary arteries of premenopausal women. *Circulation* 1994; 89: 1501-10.
- Bayard F, Clamens S, Delsol G, Blaes N, Maret A, Faye JC. Oestrogen synthesis, oestrogen metabolism and functional oestrogen receptors in bovine aortic endothelial cells in *Non-reproductive actions of sex steroids*, Ciba Symposium Foundation (Wiley, Chichester) 1995; 122-38.
- Miller VM, Vanhoutte PM. 17 $\beta$ -estradiol augments endothelium-dependent contractions to arachidonic acid in rabbit aorta. *Am J Physiol* 1990; 258: R1502-7.
- Cheng DY, Gruetter CA. Chronic estrogen alters contractile responsiveness to angiotensin II and norepinephrine in female rat aorta. *Eur J Pharmacol* 1992; 215: 171-6.
- Gisclard V, Miller VM, Vanhoutte P. Effect of 17 $\beta$ -estradiol on endothelium-dependent responses in the rabbit. *J Pharmacol Exp Ther* 1988; 244: 19-22.
- Arnal J, Elhage R, Faye J, Bayard F. Quelle est la cible des œstrogènes dans la paroi artérielle? *Med Sci* 1997; 13: 881-5.
- Arnal JF, Clamens S, Pechet C, Nègre-Salvayre A, Allera C, Girolami JP, Salvayre R, Bayard F. Ethinylestradiol does not enhance the expression of nitric oxide synthase in bovine aortic endothelial cells but increases the release of bioactive nitric oxide by inhibiting superoxide anion production. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 4108-13.
- Node K, Kitakaze M, Kosaka H, Minamoto T, Sato H, Kuzuya T, Hori M. Roles of NO and Ca<sup>2+</sup>-activated K<sup>+</sup> channels in coronary vasodilation induced by 17 $\beta$ -estradiol in ischemic heart failure. *FASEB J* 1997; 11: 793-9.
- Rosano GM, Sarrel PM, Poole-Wilson PA, Collins P. Beneficial effect of oestrogen on exercise-induced myocardial ischaemia in women with coronary artery disease. *Lancet* 1993; 342: 133-6.
- Weiner CP, Martinez E, Zhu LK, Ghodsi A, Chestnut D. *In vitro* release of endothelium-derived relaxing factor by acetylcholine is increased during guinea pig pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1989; 161: 1599-605.
- MacRitchie A, Jun S, Chen Z, German Z, Yuhanna I, Sherman T, Shaul P. Estrogen upregulates endothelial NO synthase expression in fetal pulmonary endothelium. *Circ Res* 1997; 81: 355-62.
- Olsen NJ, Kovacs WJ. Gonadal steroids and immunity. *Endocr Rev* 1996; 17: 369-84.
- Deshpande R, Khalili H, Pergolizzi RG, Michael SD, Chang MY. Estradiol downregulates LPS-induced cytokine production and NF $\kappa$ B activation in murine macrophages. *Am J Reprod Immunol* 1997; 38: 46-54.
- Frazier-Jessen MR, Kovacs EJ. Estrogen modulation of JE/monocyte chemoattractant protein-1 mRNA expression in murine macrophages. *J Immunol* 1995; 154: 1838-45.
- Dean JH, Lauer LD, Murray MJ, Luster MI, Neptun D, Adams DO. Functions of mononuclear phagocytes in mice exposed to diethylstilbestrol: a model of aberrant macrophage development. *Cell Immunol* 1986; 102: 315-22.
- Björkhem I, Anderson O, Diczfalusy U, Sevastik B, Xiu RJ, Duan C, Lund E. Atherosclerosis and sterol 27-hydroxylase: evidence for a role of this enzyme in elimination of cholesterol from human macrophages. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 8592-6.

## RÉFÉRENCES

22. Chang E, Harley CB. Telomere length and replicative aging in human vascular tissues. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 11190-4.
23. Spyridopoulos I, Sullivan A, Kearney M, Isner J, Losordo D. Estrogen-receptor-mediated inhibition of human endothelial cell apoptosis. *Circulation* 1997; 95: 1505-14.
24. Iafrafi M, Karas R, Aronovitz M, et al. Estrogen inhibits the vascular injury response in estrogen receptor  $\alpha$ -deficient mice. *Nature Med* 1997; 3: 545-8.
25. O'Brien JE, Peterson ED, Keeler GP, Berdan LG, Ohman EM, Faxon DP, Jacobs AK, Topol EJ, Califf RM. Relation between estrogen replacement therapy and restenosis after percutaneous coronary interventions. *J Am Coll Cardiol* 1996; 28: 1111-8.
26. Hough IL, Zilversmit DB. Effect of 17 $\beta$ -estradiol on aortic cholesterol content and metabolism in cholesterol-fed rabbits. *Arteriosclerosis* 1986; 6: 57-63.
27. Adams MR, Kaplan JR, Manuck SB, Koritnik DR, Parks JS, Wolfe MS, Clarkson TB. Inhibition of coronary artery atherosclerosis by 17 $\beta$ -estradiol in ovariectomized monkeys. Lack of an effect of added progesterone. *Arteriosclerosis* 1990; 10: 1051-7.
28. Wagner JD, Clarkson TB, St Clair RW, Schwenke DC, Shively CA, Adams MR. Estrogen and progesterone replacement therapy reduces LDL accumulation in the coronary arteries of surgically postmenopausal cynomolgus monkeys. *J Clin Invest* 1991; 88: 1995-2002.
29. Hayashi T, Fukuto JM, Ignarro LJ, Chaudhuri G. Basal release of nitric oxide from aortic rings is greater in female rabbits than in male rabbits: implications for atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 11259-63.
30. Bell DR, Rensberger HJ, Koritnik DR, Koshy A. Estrogen pretreatment directly potentiates endothelium-dependent vasorelaxation of porcine coronary arteries. *Am J Physiol* 1995; 37: H377-83.
31. Bourassa PA, Milos PM, Gaynor BJ, Breslow JL, Aiello RJ. Estrogen reduces atherosclerotic lesion development in apolipoprotein E-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 10022-7.
32. Elhage R, Arnal JF, Pierragi MT, Duverger N, Fiévet C, Faye JC, Bayard F. Estradiol-17 $\beta$  prevents fatty streak formation in apolipoprotein E-deficient mice. *Arterioscl Thromb Vasc Biol* 1997; 17: 2679-84.
33. Harrison DG. Cellular and molecular mechanisms of endothelial cell dysfunction. *J Clin Invest* 1997; 100: 2153-7.
34. Miyagawa K, Rosch J, Stanczyk F, Hermesmeyer K. Medroxyprogesterone interferes with ovarian steroid protection against coronary vasospasm. *Nat Med* 1997; 3: 324-7.
35. Farhat MY, Lavigne MC, Ramwell PW. The vascular protective effects of estrogen. *FASEB J* 1996; 10: 615-24.
36. Holm P, Korsgaard N, Shalmi M, Andersen HL, Hougaard P, Skouby SO, Stender S. Significant reduction of the antiatherogenic effect of estrogen by long-term inhibition of nitric oxide synthesis in cholesterol-clamped rabbits. *J Clin Invest* 1997; 100: 821-8.
37. Elhage R, Bayard F, Richard V, Holvoet P, Duverger N, Fiévet C, Arnal JF. The prevention of fatty streak formation of 17 $\beta$ -estradiol is not mediated by the production of nitric oxide in apolipoprotein E-deficient mice. *Circulation* 1997; 96: 3048-52.
38. Liao F, Andalibi A, Qiao JH, Allayee H, Fogelman AM, Lusis AJ. Genetic evidence for a common pathway mediating oxidative stress, inflammatory gene induction, and aortic fatty streak formation in mice. *J Clin Invest* 1994; 94: 877-84.
39. Smith JD, Trogan E, Ginsberg M, Gri-gaux C, Tian J, Miyata M. Decreased atherosclerosis in mice deficient in both macrophage colony-stimulating factor (op) and apolipoprotein E. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 8264-8.
40. Paech K, Webb P, Kuiper GG, Nilsson S, Gustafsson J, Kushner PJ, Scanlan TS. Differential ligand activation of estrogen receptors ER $\alpha$  and ER $\beta$  at AP1 sites. *Science* 1997; 277: 1508-10.
41. Jordan VC. Long-term tamoxifen therapy to control or to prevent breast cancer: laboratory concept to clinical trials. *Prog Clin Biol Res* 1988; 262: 105-23.
42. Grainger DJ, Metcalfe JC. Tamoxifen: teaching an old drug new tricks? *Nat Med* 1997; 2: 381-5.
43. Black LJ, Sato M, Rowley ER, et al. Raloxifene (LY139481 HCl) prevents bone loss and reduces serum cholesterol without causing uterine hypertrophy in ovariectomized rats. *J Clin Invest* 1994; 93: 63-9.
44. Ke HZ, Simmons HA, Pirie CM, Crawford DT, Thompson DD. Droloxifene, a new estrogen antagonist/agonist, prevents bone loss in ovariectomized rats. *Endocrinology* 1995; 136: 2435-41.
45. Holm P, Shalmi M, Korsgaard N, Gulddammer B, Skouby S, Stender S. A partial estrogen receptor agonist with strong antiatherogenic properties without noticeable effect on reproductive tissue in cholesterol-fed female and male rabbits. *Arterioscl Thromb Vasc Biol* 1997; 17: 2264-72.

## Summary

### Estrogens and atherosclerosis: recent data and future

Clinical and experimental data underscore the cardioprotective effects of estrogens but the mechanisms involved have not yet been characterized. Estrogen replacement therapy improves serum lipoprotein profiles in postmenopausal women, although this accounts for less than half of the protective effect. The vascular wall thus appears to constitute the main target of the hormone. This review addresses the potential molecular and cellular mechanisms concerned. Estrogens are active in the three cell populations constituting the vascular wall: endothelial and smooth muscle cells, lymphocytes and monocytes/macrophages. Functionally competent estrogen receptors, especially the recently cloned estrogen receptor  $\beta$ , have been identified in all three categories. Activities of paracrine factors including cytokines and vasoactive factors, mainly nitric oxide, are induced by estrogen treatment in the undisturbed vascular wall. Estrogens can also modify expression of these factors induced by the different types of stress that the vascular wall undergoes either physiologically (shear stress) or pathologically (atherosclerosis, balloon angioplasty). Finally the respective roles, in the constitution of the fatty streak itself, of the increased biological activity of nitric oxide and of the modified biology of macrophages under estrogen treatment are discussed.

## TIRÉS À PART

F. Bayard.

INSERM

Stage pratique de PCR  
in situ

10-11 mars 1999

Renseignements : Formation permanente – CHU Pitié-Salpêtrière – 91, boulevard de l'Hôpital – 75634 Paris Cedex 13  
Agnès Fournier : Tél. : 01 44 23 74 77 - Fax : 01 45 86 35 78 ou 01 44 06 70 56 – E-mail : Fournier@lovelace.infobiogen.fr