

*COLLÈGE NATIONAL  
DES GYNÉCOLOGUES ET OBSTÉTRICIEUS FRANÇAIS  
Président : Professeur J. Lansac*

# **Extrait des Mises à jour en Gynécologie Médicale**

—

**Volume 2008  
publié le 3.12.2008**



*TRENTE-DEUXIÈMES JOURNÉES NATIONALES  
Paris, 2008*

# **Effets des œstrogènes endogènes et exogènes sur les facteurs de risque cardiovasculaire et sur le processus athéromateux**

J.-F. ARNAL, P. GOURDY \*  
(Toulouse)

## **INTRODUCTION**

L'amélioration des facteurs classiques de risque cardiovasculaire par les œstrogènes endogènes et le traitement hormonal de la ménopause (THM) a été initialement retenue pour expliquer l'effet vasculo-protecteur suggéré par les études épidémiologiques et d'observation. Il a ainsi été proposé qu'un tiers environ de la moindre incidence des pathologies cardiovasculaires chez les femmes avant la ménopause puisse être expliqué par l'effet bénéfique des œstrogènes endogènes sur le profil lipidique, à savoir une augmentation du HDL cholestérol et un abaissement du LDL cholestérol [37]. Plus récemment, le sur-risque vasculaire lié à l'utilisation du THM, rapporté dans les études

\* INSERM U858 - CHU de Toulouse-Rangueil - Université de Toulouse - BP 84225  
31432 Toulouse cedex 4  
Correspondance : Pierre.Gourdy@inserm.fr - Jean-Francois.Arnal@inserm.fr

d'intervention HERS et WHI, a également été analysé à la lumière de ces facteurs de risque. Dans les deux études, l'augmentation du nombre d'accidents cardiovasculaires s'est produite alors que le profil lipidique des participantes était globalement amélioré par le THM, mais la modulation dans un sens péjoratif de plusieurs facteurs de la coagulation (majorant a priori le risque thrombo-embolique) et l'augmentation des taux de CRP (devenu le principal marqueur plasmatique du niveau d'inflammation systémique) par le THM ont initialement été incriminées. Cependant, les modifications de ces marqueurs sériques ne permettent pas d'expliquer l'effet cardiovasculaire délétère du THM retrouvé dans ces études d'intervention [39, 54].

Ces observations suggèrent fortement que la protection, aussi bien que les complications, que peuvent conférer les œstrogènes (exogènes ou endogènes) puissent obéir à des mécanismes physiopathologiques en grande partie indépendants de leur effet sur les facteurs de risque actuellement reconnus. Dans la situation d'incertitude actuelle, seule une meilleure compréhension des mécanismes cellulaires et moléculaires responsables des effets vasculaires des œstrogènes permettra de progresser, et de proposer de nouveaux paramètres/critères intermédiaires à étudier. Ainsi, deux des priorités récemment définies par l'American Heart Association sont : 1) de déterminer les causes de l'augmentation de l'incidence des accidents vasculaires lors des premiers mois de THS œstro-progestatif, et 2) de comprendre les mécanismes des effets bénéfiques des œstrogènes endogènes [65].

Nous résumons ci-dessous l'état actuel des connaissances concernant l'influence des œstrogènes et du THM sur les principaux facteurs de risque cardiovasculaire modifiables. Dans un second temps, nous aborderons les effets des œstrogènes sur les différents constituants cellulaires de la paroi vasculaire en intégrant les multiples données expérimentales disponibles à ce jour.

## EFFET DES STÉROÏDES SEXUELS SUR LES PRINCIPAUX FACTEURS DE RISQUE CARDIOVASCULAIRE

### **Métabolisme lipidique**

Les dyslipidémies sont des facteurs déterminants du risque vasculaire chez la femme comme chez l'homme. Durant la période

d'activité génitale, les femmes présentent un profil lipidique moins athérogène que celui des hommes avec des taux inférieurs de cholestérol LDL, mais des taux généralement supérieurs de cholestérol HDL. La ménopause se traduit par une ascension des taux de LDL et de triglycérides et une baisse du cholestérol HDL, contribuant à l'augmentation rapidement progressive du risque cardiovasculaire des femmes après 50 ans [56]. Il est désormais parfaitement démontré que les stéroïdes sexuels, et en particulier les œstrogènes, régulent le métabolisme des lipoprotéines, principalement du fait de leurs effets hépatiques. Les hépatocytes expriment la plupart des récepteurs nucléaires de ces hormones sexuelles : récepteur alpha des œstrogènes (ER $\alpha$ ), récepteurs de la progestérone (PR) et des androgènes (AR) [44].

Chez la femme ménopausée, l'administration d'œstrogènes, associés ou non à un progestatif, influence la synthèse hépatique des lipoprotéines, mais également la clairance de certaines lipoparticules, avec une intensité variable en fonction du type et de la dose des œstrogènes utilisés et de leur voie d'administration. Ainsi, l'ensemble des données de la littérature concordent pour affirmer que l'administration d'œstrogènes par voie orale se traduit par une réduction significative des taux de cholestérol LDL, mais également de Lp(a), et augmente de façon significative les taux de HDL et d'apolipoprotéine A1, mais également de triglycérides [56]. La principale explication de cette élévation du taux de triglycérides sous œstrogénothérapie orale repose sur l'augmentation de la production de particules VLDL de grande taille dont l'effet délétère semble limité en raison d'une épuraison hépatique massive limitant leur conversion en lipoparticules athérogènes (VLDL de petite taille, LDL) [64]. Ces effets favorables des œstrogènes sur le métabolisme lipidique sont souvent moins marqués lors de l'administration par voie transdermique, du fait de l'absence de premier passage hépatique. Enfin, si les différents progestatifs ne modifient pas l'effet des œstrogènes sur le cholestérol LDL, l'acétate de médroxyprogestérone atténue leur effet bénéfique sur le cholestérol HDL, ce qui ne semble pas être le cas de la progestérone micronisée [45].

Au total, les œstrogènes endogènes, ainsi que l'administration d'un traitement œstro-progestatif chez la femme ménopausée, orientent le métabolisme lipidique vers un profil moins athérogène. Cependant, deux commentaires s'imposent à ce stade de la discussion. Tout d'abord, cet effet métabolique bénéfique n'explique que très partiellement l'effet vasculo-protecteur de ces hormones, suggéré par les études épidémiologiques et parfaitement démontré dans tous les modèles animaux d'athérosclérose [4]. D'autre part, l'évolution favorable du profil

lipidique a été parfaitement confirmée par les études HERS et WHI, alors qu'aucun bénéfice vasculaire n'a été retrouvé [27, 39].

## Hypertension artérielle

Chez les femmes en période d'activité génitale, la pression artérielle et l'incidence de l'hypertension artérielle (HTA) sont moindres que chez les hommes d'âge identique, mais l'incidence de l'HTA croît rapidement après la ménopause. De façon intéressante, il a été montré que les chiffres de pression artérielle pouvaient être influencés par la fluctuation des taux circulants d'œstrogènes durant le cycle menstruel, avec des chiffres plus bas lors de la phase lutéale [10]. Plusieurs mécanismes ont été proposés pour expliquer l'existence d'un effet direct des œstrogènes sur la pression artérielle, en particulier leur impact fonctionnel sur l'endothélium et les cellules musculaires lisses vasculaires que nous aborderons ci-après [17].

Après la ménopause, le vieillissement et la recrudescence des facteurs de risque vasculaire liés à la carence œstrogénique favorisent les modifications physiques de la paroi artérielle contribuant de façon indirecte la majoration des chiffres tensionnels. Chez la femme ménopausée normo- ou hypertendue, la plupart des travaux ont retrouvé une réduction modeste ou l'absence de modification significative des chiffres tensionnels en réponse à l'administration chronique d'œstrogènes par voie orale ou transdermique, le plus souvent associée à un progestatif [17]. Notons enfin qu'au cours de l'étude WHI, les chiffres tensionnels n'ont pas été modifiés par la prise du traitement œstro-progestatif [39].

## Insulino-résistance et diabète

Un faisceau d'arguments épidémiologiques, cliniques et expérimentaux, accumulés au cours des dernières décennies, plaide en faveur d'un effet bénéfique des œstrogènes vis-à-vis du risque de diabète de type 2 et plus largement du risque d'insulino-résistance. Ainsi, la prévalence du diabète de type 2 et du syndrome métabolique, comme la survenue d'événements cardiovasculaires, sont moindres chez la femme que chez l'homme dans les tranches d'âge moyen (35-64 ans) [5, 26]. Dans ce contexte, il a été montré que les femmes en période d'activité génitale présentaient une meilleure sensibilité à l'action de l'insuline que les hommes d'âge comparable [15]. Par contre, après la

ménopause, la constitution d'une obésité androïde et l'installation d'une insulino-résistance sont favorisées, et le risque de survenue d'un diabète de type 2 nettement majoré. De façon remarquable, les études américaines HERS et WHI ont récemment rapporté une réduction significative de la résistance à l'action de l'insuline et de l'incidence du diabète de type 2 (-35 % et -21 % respectivement) chez les femmes ménopausées soumises à un traitement substitutif œstro-progestatif par comparaison à un placebo [34, 42]. À ce jour, aucune étude d'intervention n'a rapporté l'effet de l'administration d'œstrogènes seuls sur le risque de diabète de type 2.

L'implication spécifique des œstrogènes et de leur voie de signalisation dans la régulation de l'action de l'insuline et du métabolisme glucidique a cependant été démontrée chez l'homme à l'occasion d'observations exceptionnelles concernant des sujets présentant un défaut d'expression du récepteur  $\alpha$  des œstrogènes ou de l'aromatase [47, 58]. Ces observations ont été secondairement confirmées par l'étude de modèles murins transgéniques. En effet, l'invalidation du gène du récepteur  $\alpha$  des œstrogènes ou de l'aromatase se traduit par la constitution accélérée de dépôts adipeux, en particulier viscéraux, une intolérance au glucose et des stigmates francs d'insulino-résistance [28]. Enfin, s'il était parfaitement connu que les œstrogènes sont susceptibles de moduler la sécrétion d'insuline, des données expérimentales récentes suggèrent que ces hormones pourraient jouer un rôle clé en limitant la perte de la masse des cellules pancréatiques  $\beta$  favorisée dans le cadre du diabète de type 2 par les phénomènes de lipotoxicité et glucotoxicité [36].

## Marqueurs sériques d'inflammation et d'hémostase

Le type d'œstrogènes utilisé dans les principales études d'intervention (œstrogènes conjugués équinés) et surtout son mode oral d'administration ont été mis en cause par la plupart des experts, principalement en Europe. En effet, il semble que l'effet de premier passage hépatique lié à l'administration orale d'œstrogènes soit responsable d'effets systémiques délétères, en particulier pro-inflammatoires et pro-thrombotiques. Ce mode d'administration s'accompagne en effet d'une majoration des taux circulants de protéines de l'inflammation telle que la C Reactive Protein (CRP) [13], et d'une augmentation franche du risque d'évènement thrombo-embolique [46, 53]. Notons cependant que cet effet sur les protéines de l'inflammation n'a pas été retrouvé lors de l'administration orale de 17 $\beta$ -estradiol (E2)

(associé au gestodène) au cours de l'étude PHOREA [61]. Le mode d'administration transdermique permet d'éviter l'effet de premier passage hépatique, et semble limiter ces effets délétères systémiques [50]. En accord avec cette hypothèse, l'étude cas-témoin française ESTHER a comparé 155 femmes ménopausées ayant eu une maladie veineuse thrombo-embolique à 381 femmes ménopausées sans antécédent thrombo-embolique. La prise d'œstrogènes par voie orale était associée à une augmentation significative du risque thrombo-embolique (OR : 3,5 [1,8-6,8]), alors que la voie transdermique n'était pas associée à une majoration du risque (OR : 0,9 [0,5-1,6]) [55]. Enfin, il est important de souligner qu'à ce jour peu de travaux ont été rapportés concernant l'influence des stéroïdes sexuels sur les fonctions plaquet-taires, et plus globalement sur le risque thrombo-embolique artériel.

### **Facteurs de risque et polymorphisme génétique du récepteur des œstrogènes**

L'hétérogénéité de la réponse aux œstrogènes pourrait être la conséquence de polymorphismes génétiques d'ores et déjà reconnus [51]. Il existe en effet plusieurs polymorphismes du gène du récepteur des œstrogènes  $\alpha$  (RE $\alpha$ ). Le polymorphisme IVS1-401 C/C (c'est-à-dire la présence d'une cytosine en position 401 de l'intron avant l'exon 2, de manière homozygote) est observé chez 19 % de la population féminine. Ce polymorphisme est associé, en réponse au THM, à une augmentation du cholestérol HDL dont les taux plasmatiques sont doublés par rapport à la population porteuse des 2 autres génotypes (T/T ou T/C) [30]. Cependant, ce génotype n'influence pas l'élévation de la CRP [29]. Dans ce contexte, on aurait pu logiquement s'attendre à ce que les femmes porteuses du polymorphisme IVS1-401 C/C, « hyper-répondeuses » en termes d'élévation du HDL cholestérol, soient celles qui bénéficient d'une protection par le THM. À ce jour, cette hypothèse n'a été testée que dans le cadre de l'étude HERS. De façon tout à fait inattendue, il apparaît que le génotype IVS1-401 C/C expose à un risque d'accident cardiovasculaire deux fois plus important après instauration du THM (D. Herrington, commun. pers.). Ces données suggèrent que le polymorphisme IVS1-401 C/C induit la réponse exagérée de gènes associés à un effet délétère sur le risque coronarien, en dépit d'un effet favorable sur le métabolisme lipidique.

## EFFETS DES ŒSTROGÈNES SUR LES PRINCIPAUX ACTEURS CELLULAIRES IMPLIQUÉS EN PHYSIOPATHOLOGIE VASCULAIRE

### Effets des œstrogènes dans les modèles animaux d'athérosclérose

Dans tous les modèles animaux, et en particulier chez la souris déficiente en apolipoprotéine E (apoE<sup>-/-</sup>) ou en récepteur des LDL (LDLr<sup>-/-</sup>), les œstrogènes endogènes et exogènes exercent un effet protecteur significatif, caractérisé par une réduction de la constitution des lésions athéromateuses. En fonction des sites vasculaires étudiés (aorte ou coronaires) et du type de traitement administré (formulation orale ou parentérale des œstrogènes), cet effet protecteur varie de 35 % à 80 % [33, 4].

Deux points sont à souligner :

1. suivant les études, l'effet préventif des œstrogènes est soit non modifié, soit atténué par l'association d'un progestatif ;
2. chez des animaux présentant des lésions athéromateuses pré-existantes, l'effet protecteur du traitement hormonal est soit atténué, soit inexistant, suggérant que l'effet protecteur des œstrogènes prédomine lors des stades précoces du processus athéromateux [12].

La plupart des études se sont intéressées à des femelles ovariectomisées, mais l'effet protecteur des œstrogènes se manifeste également chez les mâles. De façon intéressante, un traitement chronique par testostérone se traduit également par une réduction significative de la constitution des lésions chez des mâles apoE<sup>-/-</sup> et LDLr<sup>-/-</sup> [19]. Cependant, cet effet protecteur est supprimé par l'administration concomitante d'un inhibiteur de l'aromatase, suggérant que l'effet bénéfique de la testostérone est principalement lié à sa conversion périphérique en E2 [49].

Les deux types de récepteurs des œstrogènes (ER $\alpha$  et ER $\beta$ ) sont exprimés par la plupart des acteurs cellulaires de l'athérosclérose : cellules endothéliales, cellules musculaires lisses, lymphocytes et monocytes-macrophages... Afin de déterminer la contribution relative de chacun de ces deux récepteurs dans l'effet protecteur des œstrogènes, Hodgkin et al. ont croisé les souris déficientes en ER $\alpha$  ou ER $\beta$  avec des souris apoE<sup>-/-</sup>. L'E2 réduit les lésions d'athérosclérose des animaux apoE<sup>-/-</sup> de plus de 80 %, mais cet effet inhibiteur de l'E2 est en grande partie aboli chez les souris double-mutantes ER $\alpha$  apoE<sup>-/-</sup> [32]. En



revanche, l'E2 inhibe la progression des lésions d'athérosclérose chez les souris  $ER\beta^{-/-}apoE^{-/-}$  de la même façon que chez les souris  $apoE^{-/-}$ , démontrant que son effet protecteur est totalement conservé en l'absence d' $ER\beta$  [33]. Parmi les mécanismes protecteurs suggérés par l'utilisation de ces modèles animaux d'athérosclérose, citons l'hypothèse d'une augmentation par l'E2 de la production locale de prostacycline [18].

## Effets des œstrogènes sur l'endothélium

### *Production de monoxyde d'azote*

L'endothélium produit de nombreuses substances, dont le monoxyde d'azote (NO), un messenger radicalaire qui joue un rôle vasculo-protecteur important du fait de ses propriétés vaso-dilatatrices et anti-agrégantes. Il a été rapporté dans plusieurs espèces animales que l'administration d'E2 chez des femelles ovariectomisées majore la production basale et/ou stimulée de NO, avec cependant une certaine variabilité en fonction des territoires vasculaires étudiés [23]. Dans ces modèles, plusieurs mécanismes peuvent participer à la potentialisation de la voie du NO par l'E2 : l'augmentation de l'expression et/ou de l'activité de la NO synthase endothéliale (eNOS), l'augmentation de la biodisponibilité du NO [3, 43]. Plus récemment, notre groupe a démontré que l'E2 augmente également la production basale de NO par l'endothélium chez la souris, et que cet effet est exclusivement médié par le récepteur des œstrogènes  $\alpha$  ( $ER\alpha$ ) [14].

Il a été initialement proposé que l'augmentation de la production basale de NO par l'endothélium exerce un effet protecteur puissant vis-à-vis du processus athéromateux, et par conséquent pouvait contribuer à l'effet protecteur des œstrogènes. Cependant, le blocage pharmacologique de la production de NO par le L-NAME n'influence pas le développement de la strie lipidique chez la souris  $apoE^{-/-}$ , à la différence de ce qui avait été observé chez le lapin, et n'altère en rien l'effet athéro-protecteur de l'E2 [20]. De façon similaire, la surface des lésions est réduite de 75 % par l'administration d'E2 chez des souris  $apoE^{-/-}$  déficientes en eNOS [31]. Ces données indiquent que l'augmentation de la production de NO par les œstrogènes n'est pas impliquée dans la prévention de la strie lipidique. Néanmoins, cet effet peut s'avérer bénéfique à des stades plus avancés de l'athérosclérose, grâce aux effets antispastique et antiagrégant plaquettaire du NO.

### ***Processus de réendothélialisation***

Dans les modèles expérimentaux d'agression vasculaire chez le rongeur, les œstrogènes accélèrent la vitesse de régénération de l'endothélium [7, 35]. Nous avons démontré que les mécanismes de cet effet endothélial bénéfique impliquent ER $\alpha$  et le facteur de croissance FGF-2 (fibroblast growth factor 2). De façon assez inattendue, ce facteur de croissance joue également un rôle clé dans la mobilisation des progéniteurs endothéliaux d'origine médullaire qui contribuent à l'accélération de la vitesse de réendothélialisation [22]. Ces données indiquent que l'E2 est susceptible de favoriser le processus de cicatrisation endothéliale après une agression vasculaire de type angioplastie endo-luminale.

### ***Régulation de l'expression des molécules d'adhérence leucocytaire***

Le recrutement des cellules inflammatoires par l'endothélium est une étape clé du processus athéromateux. L'inhibition par les œstrogènes de l'expression endothéliale des molécules d'adhérence leucocytaire qui conditionnent ce recrutement pourrait expliquer l'effet protecteur de ces hormones sur les stades précoces de l'athérosclérose. Bien que certaines approches expérimentales *in vitro* aient donné lieu à des résultats divergents [11], deux études utilisant des cellules endothéliales humaines stimulées par IL-1 ont démontré que l'E2 inhibait l'induction de VCAM-1 et l'expression membranaire de E-sélectine et ICAM-1 [9, 57]. La diminution de l'expression du gène VCAM-1 a été imputée à une inhibition des activités de NF- $\kappa$ B, AP-1 et GATA. En accord avec ces observations, des expériences *ex vivo* chez le lapin hypercholestérolémique montrent que l'E2 diminue l'adhérence endothéliale des monocytes en inhibant l'expression de VCAM-1 [48].

Nous avons rapporté que l'effet athéro-protecteur de l'E2 n'était pas altéré chez des souris femelles apoE<sup>-/-</sup> P-sélectine<sup>-/-</sup> ou apoE<sup>-/-</sup> ICAM-1<sup>-/-</sup>, dédouanant l'implication de ces deux molécules d'adhérence leucocytaire [25]. Nous avons par contre constaté que l'induction de l'expression endothéliale de VCAM-1 chez des souris soumises à un régime athérogène était significativement inhibée par l'administration d'E2 (-32 %), en accord avec les résultats de travaux antérieurs *in vitro* et *ex vivo*. Malheureusement, l'ensemble de ces approches ne permet cependant pas d'établir le degré d'implication de cette molécule d'adhérence dans l'effet protecteur de l'hormone. Enfin, il a été proposé que l'E2 favorise l'expression endothéliale de la molécule pro-apoptotique FasL et pourrait ainsi limiter le trafic trans-endothélial des leucocytes, favorisant en particulier l'apoptose des lymphocytes activés [2].

### ***Effets anti-apoptotiques des œstrogènes***

Bien que les cellules endothéliales soient considérées comme résistantes à l'apoptose, il est acquis que ce processus classique de mort cellulaire concerne l'endothélium [62]. À ce jour, l'effet des œstrogènes sur ce phénomène n'a pu être testé que dans des modèles de cellules endothéliales en culture, soumises à divers stimuli pro-apoptotiques. Le traitement de cellules endothéliales humaines (HUVECs) par l'E2 entraîne une inhibition dose dépendante de l'apoptose induite par le TNF- $\alpha$  en inhibant la caspase 1 [60]. Deux études utilisant des cellules endothéliales bovines (BAECs) ont confirmé l'effet anti-apoptotique de l'E2 dans des conditions d'hypoxie [52] ou de modification des milieux de culture [1]. Dans l'état actuel des connaissances, aucun argument ne permet d'établir directement l'implication de phénomènes d'apoptose endothéliale lors des stades évolutifs du processus athéromateux.

### **Effets des œstrogènes sur les cellules musculaires lisses vasculaires**

Les cellules musculaires lisses, qui jouent un rôle déterminant dans la constitution de la chape fibro-musculaire et donc dans la stabilité des plaques d'athérosclérose, sont également cibles des œstrogènes. En effet, des concentrations physiologiques d'E2 inhibent la prolifération des cellules musculaires lisses humaines *in vitro*, ainsi que leur migration en présence de PDGF (platelet-derived growth factor) et la production de protéines de la matrice extra-cellulaire [16]. Des travaux utilisant des cellules musculaires lisses de lapin suggèrent cependant que l'effet de l'E2 sur la prolifération de ce type cellulaire puisse être très variable en fonction du phénotype, contractile ou sécrétant, des cellules [59].

Plusieurs études conduites dans des modèles animaux d'agression vasculaire, essentiellement par dilatation endo-luminale au ballon, indiquent que les œstrogènes préviennent le développement de l'hyperplasie néo-intimale observée chez des femelles ovariectomisées [21]. Enfin, il est également reconnu que les cellules musculaires lisses participent à la réaction inflammatoire du processus athéromateux en sécrétant des cytokines pro-inflammatoires, principalement de l'IL-6. La production d'IL-6 par des cellules musculaires lisses de rat stimulées par IL-1 n'est cependant pas affectée par l'E2 [40].

## Effets des œstrogènes sur le système immuno-inflammatoire

Le rôle crucial des cellules du système immuno-inflammatoire (monocytes-macrophages, lymphocytes, cellules dendritiques...) au cours du processus athéromateux a été parfaitement démontré au cours des dernières années. En particulier, la balance entre les productions de cytokines pro-inflammatoires et anti-inflammatoires au sein de la paroi artérielle est un élément déterminant à tous les stades de l'athérosclérose [6], favorisant d'une part le développement de la strie lipidique, d'autre part l'instabilité des plaques évoluées [38]. De façon remarquable, les œstrogènes exercent des effets sur les différentes composantes du système immuno-inflammatoire, influençant les étapes de différenciation et de maturation des différents types cellulaires, mais également un grand nombre de réponses inflammatoires et immunes.

Notre compréhension actuelle du processus athéromateux suggère que les effets vasculaires des œstrogènes puissent être liés à la modulation de la production locale de cytokines par les cellules de la paroi artérielle, principalement les lymphocytes et les macrophages. Bien que de nombreux travaux expérimentaux *in vitro* aient suggéré un effet anti-inflammatoire des œstrogènes, les données récentes concordent pour affirmer que l'administration chronique d'E2 *in vivo* favorise la production de cytokines pro-inflammatoires. En effet, l'E2 favorise la polarisation de la réponse lymphocytaire T CD4<sup>+</sup> vers un profil Th1 en réponse à des stimulations antigéniques classiques. La réponse proliférative, ainsi que la production d'IFN- $\gamma$  par les lymphocytes T CD4<sup>+</sup> spécifiques de l'antigène, sont exacerbées chez des souris traitées par E2 et, comme pour les effets endothéliaux, cette réponse est médiée par ER $\alpha$  mais indépendante de ER $\beta$  [41]. Nous avons également démontré que les œstrogènes endogènes et exogènes favorisent la production d'IFN- $\gamma$  par les lymphocytes T Natural Killer (ou NKT) [24], sous-population lymphocytaire T minoritaire impliquée dans le processus athéromateux [63]. Notons également que, contrairement aux observations réalisées *in vitro*, l'administration d'E2 *in vivo* favorise la production de cytokines pro-inflammatoires (IL-1, IL-6, IL-12) par des macrophages péritonéaux murins dans diverses conditions de stimulation *ex vivo* [8].

## CONCLUSION

Les œstrogènes et le THM exercent globalement un effet bénéfique sur les facteurs classiques du risque vasculaire, en particulier sur les métabolismes lipidique et glucidique. Des arguments de plus en plus convaincants s'accumulent pour incriminer la voie d'administration orale et l'utilisation de progestatifs de synthèse dans l'élévation des facteurs pro-thrombotiques et des marqueurs sériques d'inflammation. Cependant, ce constat ne permet en aucun cas d'éclairer notre compréhension de l'influence des hormones stéroïdes sexuelles sur la physiopathologie vasculaire.

Compte tenu de la complexité physiopathologique de l'athérosclérose d'une part, et de la multiplicité des cibles cellulaires des œstrogènes d'autre part, on peut s'attendre à ce que les mécanismes médiant les effets vasculaires des œstrogènes soient multiples, variables, voire divergents, en fonction du stade du processus athéromateux, des facteurs génétiques et des facteurs environnementaux. Ces mécanismes sont ainsi probablement la clé de la discordance apparente entre un effet protecteur des œstrogènes sur les stades précoces du processus, et au contraire un effet délétère lorsque les lésions d'athérosclérose sont plus avancées. Il est donc probable que les cibles prédominantes de l'E2 soient différentes lors des stades précoces et tardifs du processus athéromateux.

Dans l'état actuel de nos connaissances, l'effet protecteur de l'E2 sur les stades précoces du processus athéromateux ne peut s'expliquer que par un effet endothélial prédominant, limitant le recrutement et/ou l'activation des cellules du système immuno-inflammatoire. En revanche, si l'effet pro-inflammatoire des œstrogènes se manifeste au sein des plaques d'athérosclérose constituées, il pourrait contribuer au surcroît de risque observé dans les études d'intervention en favorisant les phénomènes de rupture de plaque.

### Résumé

*Les mécanismes responsables des effets des œstrogènes et du traitement hormonal de la ménopause (THM) sur la paroi vasculaire restent très incertains. L'existence d'une influence bénéfique sur les métabolismes lipidique et glucidique est clairement identifiée et pourrait contribuer à l'effet protecteur des œstrogènes endogènes. Par contre, l'administration d'œstrogènes par voie orale favorise la production hépatique de facteurs pro-thrombotiques et de marqueurs inflammatoires sériques dont la C Reactive Protein. Cependant, l'effet du THM sur ces facteurs de risque ne permet pas d'expliquer le surcroît de risque vasculaire rapporté dans les études HERS et WHI. Au cours des dernières années, différentes approches expérimentales ont permis de préciser les multiples effets des œstrogènes sur les différents constituants cellulaires de la paroi vasculaire. Ainsi, l'effet protecteur de l'œstradiol sur les stades précoces du processus athéromateux pourrait s'expliquer par un effet endothélial prédominant, limitant le recrutement et/ou l'activation des cellules du système immuno-inflammatoire. En revanche, l'administration d'œstrogènes in vivo est responsable d'un effet pro-inflammatoire qui, s'il se manifeste au sein des plaques d'athérosclérose constituées, pourrait s'avérer délétère en favorisant les phénomènes de rupture de plaque.*

*Mots clés : œstrogènes, endothélium, inflammation, athérosclérose, lipides*

### Abstract

*The mechanisms mediating the vascular effects of estrogens and hormonal replacement therapy remain uncertain. Their beneficial effect on lipids and glucose metabolism is well recognized, and potentially involved in the protective effect of endogenous estrogens. By contrast, oral estrogen administration increases the production of procoagulatory and inflammatory factors such as C Reactive Protein. However, the increased vascular risk observed in the HERS and WHI studies cannot be explained by these effects of HRT on cardiovascular risk factors. During the last years, experimental data improved our knowledge of the effects of estrogens on the cellular components of the vascular wall. Indeed, the protective effect of estradiol on the early stage of atherosclerosis could be due to a predominant beneficial effect on the endothelium, reducing the recruitment and/or the activation of immune/inflammatory cells. On the other hand, in vivo estradiol administration was recently demonstrated to increase the production of pro-inflammatory cytokines by immune cells. This pro-inflammatory effect could contribute to atherosclerotic plaque rupture, explaining the increase in cardiovascular events following the initiation of HRT.*

*Keywords: estrogens, endothelium, inflammation, atherosclerosis, lipids*

## Bibliographie

- [1] Alvarez RJ, Gips SJ, Moldovan N, Wilhide CC, Milliken EE, Hoang AT, Hruban RH, Silverman HS, Dang CV, Goldschmidt-Clermont PJ. 17beta-estradiol inhibits apoptosis of endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1997;237:372-381.
- [2] Amant C, Holm P, Xu Sh SH, Tritman N, Kearney M, Losordo DW. Estrogen receptor-mediated, nitric oxide-dependent modulation of the immunologic barrier function of the endothelium: regulation of fas ligand expression by estradiol. *Circulation* 2001;104:2576-2581.
- [3] Arnal JF, Clamens S, Pechet C, Negre-Salvayre A, Allera C, Girolami JP, Salvayre R, Bayard F. Ethinylestradiol does not enhance the expression of nitric oxide synthase in bovine endothelial cells but increases the release of bioactive nitric oxide by inhibiting superoxide anion production. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996;93:4108-4113.
- [4] Arnal JF, Scarabin PY, Tremollieres F, Laurell H, Gourdy P. Estrogens in vascular biology and disease: where do we stand today? *Curr Opin Lipidol* 2007;18:554-560.
- [5] Balkau B, Vernay M, Mhamdi L, Novak M, Arondel D, Vol S, Tichet J, Eschwege E. The incidence and persistence of the NCEP (National Cholesterol Education Program) metabolic syndrome. The French D.E.S.I.R. study. *Diabetes Metab* 2003;29:526-532.
- [6] Binder CJ, Chang MK, Shaw PX, Miller YI, Hartvigsen K, Dewain A, Witztum JL. Innate and acquired immunity in atherogenesis. *Nat Med* 2002;8:1218-1226.
- [7] Brouchet L, Krust A, Dupont S, Chambon P, Bayard F, Arnal JF. Estradiol accelerates reendothelialization in mouse carotid artery through estrogen receptor-alpha but not estrogen receptor-beta. *Circulation* 2001;103:423-428.
- [8] Calippe B, Douin-Echinard V, Laffargue M, Laurell H, Rana-Poussine V, Pipy B, Guery JC, Bayard F, Arnal JF, Gourdy P. Chronic estradiol administration in vivo promotes the proinflammatory response of macrophages to TLR4 activation: involvement of the phosphatidylinositol 3-kinase pathway. *J Immunol* 2008;180:7980-7988.
- [9] Caulin-Glaser T, Watson CA, Pardi R, Bender JR. Effects of 17beta-estradiol on cytokine-induced endothelial cell adhesion molecule expression. *J Clin Invest* 1996;98:36-42.
- [10] Chapman AB, Zamudio S, Woodmansee W, Merouani A, Osorio F, Johnson A, Moore LG, Dahms T, Coffin C, Abraham WT, Schrier RW. Systemic and renal hemodynamic changes in the luteal phase of the menstrual cycle mimic early pregnancy. *Am J Physiol* 1997;273:F777-782.
- [11] Cid MC, Kleinman HK, Grant DS, Schnaper HW, Fauci AS, Hoffman GS. Estradiol enhances leukocyte binding to tumor necrosis factor (TNF)-stimulated endothelial cells via an increase in TNF-induced adhesion molecules E-selectin, intercellular adhesion molecule type 1, and vascular cell adhesion molecule type 1. *J Clin Invest* 1994;93:17-25.
- [12] Clarkson TB, Appt SE. Controversies about HRT—lessons from monkey models. *Maturitas* 2005;51:64-74.
- [13] Cushman M, Meilahn EN, Psaty BM, Kuller LH, Dobs AS, Tracy RP. Hormone replacement therapy, inflammation, and hemostasis in elderly women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19:893-899.
- [14] Darblade B, Pendaries C, Krust A, Dupont S, Fouque MJ, Rami J, Chambon P, Bayard F, Arnal JF. Estradiol alters nitric oxide production in the mouse aorta through the alpha-, but not beta-, estrogen receptor. *Circ Res* 2002;90:413-419.
- [15] Donahue RP, Bean JA, Donahue RA, Goldberg RB, Prineas RJ. Insulin response in a triethnic population: effects of sex, ethnic origin, and body fat. Miami Community Health Study. *Diabetes Care* 1997;20:1670-1676.
- [16] Dubey RK, Jackson EK, Gillespie DG, Zacharia LC, Imthurn B, Keller PJ. Clinically used estrogens differentially inhibit human aortic smooth muscle cell growth and mitogen-activated protein kinase activity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:964-972.
- [17] Dubey RK, Oparil S, Imthurn B, Jackson EK. Sex hormones and hypertension. *Cardiovasc Res* 2002;53:688-708.
- [18] Egan KM, Lawson JA, Fries S, Koller B, Rader DJ, Smyth EM, Fitzgerald GA. COX-2-derived prostacyclin confers atheroprotection on female mice. *Science* 2004;306:1954-1957.
- [19] Elhage R, Arnal JF, Pierraggi M-T, Duverger N, Fiévet C, Faye JC, Bayard F. Estradiol-17β prevents fatty streak formation in apolipoprotein

E-deficient mice. *Arterioscl Thromb Vasc Biol* 1997;17:2679-2684.

[20] Elhage R, Bayard F, Richard V, Holvoet P, Duverger N, Fievet C, Arnal JF. Prevention of fatty streak formation of 17beta-estradiol is not mediated by the production of nitric oxide in apolipoprotein E-deficient mice. *Circulation* 1997;96:3048-3052.

[21] Foegh ML, Asotra S, Howell MH, Ramwell PW. Estradiol inhibition of arterial neointimal hyperplasia after balloon injury. *J Vasc Surg* 1994;19:722-726.

[22] Fontaine V, Filipe C, Werner N, Gourdy P, Billon A, Garmy-Susini B, Brouchet L, Bayard F, Prats H, Doetschman T, Nickenig G, Arnal JF. Essential role of bone marrow fibroblast growth factor-2 in the effect of estradiol on reendothelialization and endothelial progenitor cell mobilization. *Am J Pathol* 2006;169:1855-1862.

[23] Gisclard V, Miller VM, Vanhoutte PM. Effect of 17 beta-estradiol on endothelium-dependent responses in the rabbit. *J Pharmacol Exp Ther* 1988;244:19-22.

[24] Gourdy P, Araujo LM, Zhu R, Garmy-Susini B, Diem S, Laurell H, Leite-de-Moraes M, Dy M, Arnal JF, Bayard F, Herbelin A. Relevance of sexual dimorphism to regulatory T cells: estradiol promotes IFN- $\gamma$  production by invariant natural killer T cells. *Blood* 2005;105:2415-2420.

[25] Gourdy P, Mallat Z, Castano C, Garmy-Susini B, Mac Gregor JL, Tedgui A, Arnal JF, Bayard F. The atheroprotective effect of 17 beta-estradiol is not altered in P-selectin- or ICAM-1-deficient hypercholesterolemic mice. *Atherosclerosis* 2003;166:41-48.

[26] Gourdy P, Ruidavets JB, Ferrieres J, Ducimetiere P, Amouyel P, Arveiler D, Cottel D, Lamamy N, Bingham A, Hanaire-Broutin H. Prevalence of type 2 diabetes and impaired fasting glucose in the middle-aged population of three French regions - The MONICA study 1995-97. *Diabetes Metab* 2001;27:347-358.

[27] Grady D, Herrington D, Bittner V, Blumenthal R, Davidson M, Hlatky M, Hsia J, Hulley S, Herd A, Khan S, Newby LK, Waters D, Vittinghoff E, Wenger N. Cardiovascular disease outcomes during 6.8 years of hormone therapy: Heart and Estrogen/progestin Replacement Study follow-up (HERS II). *JAMA* 2002;288:49-57.

[28] Heine PA, Taylor JA, Iwamoto GA, Lubahn DB, Cooke PS. Increased adipose tissue in male and female estrogen receptor-alpha knockout mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97:12729-12734.

[29] Herrington DM, Howard TD, Brosnihan KB, McDonnell DP, Li X, Hawkins GA, Reboussin DM, Xu J, Zheng SL, Meyers DA, Bleecker ER. Common estrogen receptor polymorphism augments effects of hormone replacement therapy on E-selectin but not C-reactive protein. *Circulation* 2002;105:1879-1882.

[30] Herrington DM, Howard TD, Hawkins GA, Reboussin DM, Xu J, Zheng SL, Brosnihan KB, Meyers DA, Bleecker ER. Estrogen-receptor polymorphisms and effects of estrogen replacement on high-density lipoprotein cholesterol in women with coronary disease. *N Engl J Med* 2002;346:967-974.

[31] Hodgin JB, Knowles JW, Kim HS, Smithies O, Maeda N. Interactions between endothelial nitric oxide synthase and sex hormones in vascular protection in mice. *J Clin Invest* 2002;109:541-548.

[32] Hodgin JB, Kregge JH, Reddick RL, Korach KS, Smithies O, Maeda N. Estrogen receptor alpha is a major mediator of 17beta-estradiol's atheroprotective effects on lesion size in Apoe<sup>-/-</sup> mice. *J Clin Invest* 2001;107:333-340.

[33] Hodgin JB, Maeda N. Minireview: estrogen and mouse models of atherosclerosis. *Endocrinology* 2002;143:4495-4501.

[34] Kanaya AM, Herrington D, Vittinghoff E, Lin F, Grady D, Bittner V, Cauley JA, Barrett-Connor E. Glycemic effects of postmenopausal hormone therapy: the Heart and Estrogen/progestin Replacement Study. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Ann Intern Med* 2003;138:1-9.

[35] Krasinski K, Spyridopoulos I, Asahara T, van der Zee R, Isner JM, Losordo DW. Estradiol accelerates functional endothelial recovery after arterial injury. *Circulation* 1997;95:1768-1772.

[36] Le May C, Chu K, Hu M, Ortega CS, Simpson ER, Korach KS, Tsai MJ, Mauvais-Jarvis F. Estrogens protect pancreatic beta-cells from apoptosis and prevent insulin-deficient diabetes mellitus in mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006;103:9232-9237.

[37] Lerner DJ, Kannel WB. Patterns of coronary heart disease morbidity and mortality in the sexes: a 26-year follow-up of the Framingham population. *Am Heart J* 1986;111:383-390.

[38] Libby P. Inflammation in atherosclerosis. *Nature* 2002;420:868-874.

[39] Manson JE, Hsia J, Johnson KC, Rossouw JE, Assaf AR, Lasser NL, Trevisan M, Black HR, Heckbert SR, Detrano R, Strickland



OL, Wong ND, Crouse JR, Stein E, Cushman M. Estrogen plus progestin and the risk of coronary heart disease. *N Engl J Med* 2002;349:523-534.

[40] Maret A, Clamens S, Delrieu I, Elhage R, Arnal JF, Bayard F. Expression of the interleukin-6 gene is constitutive and not regulated by estrogen in rat vascular smooth muscle cells in culture. *Endocrinology* 1999;140:2876-2882.

[41] Maret A, Coudert JD, Garidou L, Foucras G, Gourdy P, Krust A, Dupont S, Chambon P, Druet P, Bayard F, Guery JC. Estradiol enhances primary antigen-specific CD4 T cell responses and Th1 development in vivo. Essential role of estrogen receptor alpha expression in hematopoietic cells. *Eur J Immunol* 2003;33:512-521.

[42] Margolis KL, Bonds DE, Rodabough RJ, Tinker L, Phillips LS, Allen C, Bassford T, Burke G, Torrens J, Howard BV. Effect of oestrogen plus progestin on the incidence of diabetes in postmenopausal women: results from the Women's Health Initiative Hormone Trial. *Diabetologia* 2004;47:1175-1187.

[43] Mendelsohn ME. Nongenomic, ER-mediated activation of endothelial nitric oxide synthase: how does it work? What does it mean? *Circ Res* 2000;87:956-960.

[44] Mendelsohn ME, Karas RH. Molecular and cellular basis of cardiovascular gender differences. *Science* 2005;308:1583-1587.

[45] Mikkola TS, Clarkson TB. Estrogen replacement therapy, atherosclerosis, and vascular function. *Cardiovasc Res* 2002;53:605-619.

[46] Miller J, Chan BK, Nelson HD. Postmenopausal estrogen replacement and risk for venous thromboembolism: a systematic review and meta-analysis for the U.S. Preventive Services Task Force. *Ann Intern Med* 2002;136:680-690.

[47] Morishima A, Grumbach MM, Simpson ER, Fisher C, Qin K. Aromatase deficiency in male and female siblings caused by a novel mutation and the physiological role of estrogens. *J Clin Endocrinol Metab* 1995;80:3689-3698.

[48] Nathan L, Pervin S, Singh R, Rosenfeld M, Chaudhuri G. Estradiol inhibits leukocyte adhesion and transendothelial migration in rabbits in vivo: possible mechanisms for gender differences in atherosclerosis. *Circ Res* 1999;85:377-385.

[49] Nathan L, Shi W, Dinh H, Mukherjee TK, Wang X, Lusic AJ, Chaudhuri G. Testosterone inhibits early atherogenesis by conversion to estradiol: critical role of aromatase. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001;98:3589-3593.

[50] Oger E, Alhenc-Gelas M, Lacut K, Blouch MT, Roudaut N, Kerlan V, Collet M, Abgrall JF, Aiach M, Scarabin PY, Mottier D. Differential effects of oral and transdermal estrogen/progesterone regimens on sensitivity to activated protein C among postmenopausal women: a randomized trial. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003;23:1671-1676.

[51] Pepine CJ, Nichols WW. Estrogen and different aspects of vascular disease in women and men. *Circ Res* 2006;99:459-461.

[52] Razandi M, Pedram A, Levin ER. Estrogen signals to the preservation of endothelial cell form and function. *J Biol Chem* 2000;275:38540-38546.

[53] Rossouw JE, Anderson GL, Prentice RL, LaCroix AZ, Kooperberg C, Stefanick ML, Jackson RD, Beresford SA, Howard BV, Johnson KC, Kotchen JM, Ockene J. Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results From the Women's Health Initiative randomized controlled trial. *Jama* 2002;288:321-333.

[54] Rossouw JE, Prentice RL, Manson JE, Wu L, Barad D, Barnabei VM, Ko M, LaCroix AZ, Margolis KL, Stefanick ML. Postmenopausal hormone therapy and risk of cardiovascular disease by age and years since menopause. *Jama* 2007;297:1465-1477.

[55] Scarabin PY, Oger E, and Plu-Bureau G. Differential association of oral and transdermal oestrogen-replacement therapy with venous thromboembolism risk. *Lancet* 2003;362:428-432.

[56] Seed M, Knopp RH. Estrogens, lipoproteins, and cardiovascular risk factors: an update following the randomized placebo-controlled trials of hormone-replacement therapy. *Curr Opin Lipidol* 2004;15:459-467.

[57] Simoncini T, Maffei S, Basta G, Barsacchi G, Genazzani AR, Liao JK, De Caterina R. Estrogens and glucocorticoids inhibit endothelial vascular cell adhesion molecule-1 expression by different transcriptional mechanisms. *Circ Res* 2000;87:19-25.

[58] Smith EP, Boyd J, Frank GR, Takahashi H, Cohen RM, Specker B, Williams TC, Lubahn DB, Korach KS. Estrogen resistance caused by a mutation in the estrogen-receptor gene in a man. *N Engl J Med* 1994;331:1056-1061.

[59] Song J, Wan Y, Rolfe BE, Campbell JH, Campbell GR. Effect of estrogen on vascular smooth muscle cells is dependent upon cellular phenotype. *Atherosclerosis* 1998;140:97-104.

[60] Spyridopoulos I, Sullivan AB, Kearney M, Isner JM, Losordo DW. Estrogen-receptor-mediated inhibition of human endothelial cell apoptosis. Estradiol as a survival factor. *Circulation* 1997;95:1505-1514.

[61] Stork S, von Schacky C, Angerer P. The effect of 17beta-estradiol on endothelial and inflammatory markers in postmenopausal women: a randomized, controlled trial. *Atherosclerosis* 2002;165:301-307.

[62] Tricot O, Mallat Z, Heymes C, Belmin J, Lesèche G, Tedgui A. Relation between endothelial cell apoptosis and blood flow direction in human atherosclerotic plaques. *Circulation* 2000;101:2450-2453.

[63] Tupin E, Nicoletti A, Elhage R, Rudling M, Ljunggren HG, Hansson GK, Berne GP. CD1d-

dependent activation of NKT cells aggravates atherosclerosis. *J Exp Med* 2004;199:417-422.

[64] Walsh BW, Schiff I, Rosner B, Greenberg L, Ravnkar V, Sacks FM. Effects of postmenopausal estrogen replacement on the concentrations and metabolism of plasma lipoproteins. *N Engl J Med* 1991;325:1196-1204.

[65] Waters DD, Gordon D, Rossouw JE, Cannon RO 3<sup>rd</sup>, Collins P, Herrington DM, Hsia J, Langer R, Mosca L, Ouyang P, Sopko G, Stefanick ML. Women's Ischemic Syndrome Evaluation: current status and future research directions: report of the National Heart, Lung and Blood Institute workshop: October 2-4, 2002: Section 4: lessons from hormone replacement trials. *Circulation* 2004;109:e53-55.