

## Vaisseaux, angiogenèse et hypoxie

# Quelle est la cible des œstrogènes dans la paroi artérielle ?

Le rôle des œstrogènes dans la prévention de la maladie athéroscléreuse est constaté de façon permanente en clinique, même si les études épidémiologiques capables de démontrer clairement cette impression clinique sont rares. Les résultats obtenus par l'administration d'œstrogènes pendant la période postménopausique [1] et l'analyse des résultats d'enquêtes (réalisées avec un objectif tout autre que l'étude de cet effet préventif) [2] permettent de retrouver l'effet vasculoprotecteur des œstrogènes. Il est connu que l'administration d'œstrogènes peut améliorer le profil lipidique, mais ces résultats suggèrent que l'effet bénéfique siègerait également au niveau de la paroi vasculaire [2]. Comprendre le mécanisme de cet effet serait intéressant pour préciser la cible susceptible d'être modulée par des agents pharmacologiques comme elle l'est par les hormones.

La paroi vasculaire apparaît comme un véritable organe cible des hormones œstrogéniques. On a pu caractériser, à ce niveau, la forme classique du récepteur des œstrogènes [3-5]. Très récemment, une isoforme de ce récepteur (comportant une délétion de l'exon 4) a été mise en évidence dans des cellules musculaires lisses de vaisseaux humains [6]; le rôle de cette nouvelle isoforme reste à préciser. Nous avons aussi montré la présence d'activités enzymatiques pouvant interconvertir œstradiol et œstrone mais aussi produire dans la paroi artérielle, par aromatisation des androgènes, des concentrations d'œstrogènes supérieures aux concentrations circulantes [5].

Dans un premier temps, nous détaillerons l'effet des œstrogènes

sur la paroi artérielle normale, ainsi que sa signification physiologique. Dans un deuxième temps, nous envisagerons les mécanismes des œstrogènes protégeant de la maladie athéromateuse.

### Cibles vasculaires des œstrogènes en physiologie

Il convient de s'interroger d'emblée sur la « finalité » d'une action des œstrogènes sur la paroi vasculaire. En d'autres termes, de quels mécanismes dispose l'appareil circulatoire pour s'adapter à la gestation, c'est-à-dire à une demande accrue d'apport sanguin par l'utérus et le placenta. On admet que la morphologie d'un vaisseau (épaisseur de la paroi et diamètre de la lumière) s'adapte en fonction des contraintes physiques auxquelles il est soumis (respectivement la pression intravasculaire et le débit sanguin) (voir l'article de Bernard Lévy et Alain Tedgui, p. 790 de ce numéro). Plus précisément, les cellules musculaires lisses et l'endothélium perçoivent, respectivement, une contrainte tensionnelle pariétale et une contrainte de cisaillement. Chaque type cellulaire reçoit et émet des signaux visant à normaliser en permanence ces contraintes (en adaptant l'épaisseur de la média et le diamètre de la lumière vasculaire). Au cours de la gestation, l'essentiel de l'adaptation vasculaire en réponse à l'augmentation majeure de débit sanguin de l'utérus (environ multiplié par 35 à la fin de la gestation) est probablement d'ordre hémodynamique [7]. Si les contraintes mécaniques et les signaux autocrines et paracrines locaux sont essentiels au remodelage vasculaire, il se peut que

des facteurs circulants, comme les œstrogènes, puissent favoriser le processus de remodelage grâce à une importante production locale de récepteurs spécifiques.

Les travaux consacrés aux modifications de la réactivité vasculaire montrent que, en présence d'œstrogènes, l'effet des substances vasoconstrictrices est diminué *in vivo*, tandis que la production de substances vasodilatrices est favorisée. Cependant, une analyse attentive de ces travaux suggère un phénomène plus complexe. Certes, une imprégnation œstrogénique chronique diminue la réponse pressive systémique à l'angiotensine II et la réponse contractile de l'aorte de rat à ce peptide [8]. En revanche, dans ce dernier modèle, elle augmente la réponse contractile à la noradrénaline. En outre, ces réponses varient en fonction des espèces animales, mais aussi des lits vasculaires considérés. Ces variations pourraient être le fait de différences d'expression des cibles des catécholamines dans la paroi vasculaire: la stimulation des récepteurs  $\alpha_2$  adrénergiques endothéliaux provoque la production de monoxyde d'azote (NO) et donc la vasorelaxation, l'activation des récepteurs  $\alpha_1$  et  $\alpha_2$  présents sur les cellules musculaires lisses entraînant une vasoconstriction. Au total, si les cellules musculaires lisses vasculaires sont bien une cible des œstrogènes, leur effet ne se résume pas à une hyporéactivité aux substances vasoconstrictrices. L'endothélium produit un certain nombre de facteurs paracrines modulant le tonus des cellules musculaires lisses sous-jacentes [9]. Parmi ces facteurs, on considère actuellement que le monoxyde d'azote est responsable de l'essentiel de la relaxation dépendante

de l'endothélium des gros vaisseaux chez la plupart des espèces animales. Le monoxyde d'azote endothélial est produit de façon constante à l'état basal, mais aussi sous l'effet de nombreux stimulus endocriniens (acétylcholine, bradykinine...) ou mécaniques (comme les forces de cisaillement exercées par le flux sanguin sur l'endothélium). La relaxation dépendante de l'endothélium est accrue au cours de la grossesse, et cet effet est, au moins en partie, relayé par l'œstradiol [10].

Par quel(s) mécanisme(s) les œstrogènes favorisent-ils cette relaxation dépendante de l'endothélium? Une augmentation de la production de la monoxyde d'azote synthase endothéliale, sous l'effet de l'œstradiol, a été rapportée au niveau de l'artère utérine chez le cochon d'Inde, et au niveau de l'aorte chez le rat [11, 12]. Pour notre part, utilisant un modèle de cellules endothéliales d'aorte de bœuf en culture, nous n'avons pas observé de variations de l'ARNm, de la protéine ou de l'activité de la monoxyde d'azote synthase endothéliale sous l'effet de l'œstradiol. En revanche, ces mêmes cellules exposées à l'œstradiol produisent davantage de monoxyde d'azote biologiquement actif dans le milieu de culture, et moins d'anions superoxyde [13]. L'ensemble de ces résultats indique que l'œstradiol a un effet anti-oxydant sur l'endothélium en culture. Cet effet est relayé par un mécanisme de forte affinité ( $EC_{50} < 1 \text{ nM}$ ), et il est aboli par un anti-œstrogène, ce qui suggère le rôle d'un récepteur. Il n'apparaît qu'après 24 heures d'incubation et il concourt à diminuer la dégradation du monoxyde d'azote. L'augmentation, en réponse aux œstrogènes, de la relaxation dépendante de l'endothélium pourrait donc être due, selon les espèces et les lits vasculaires, à une augmentation de la production de monoxyde d'azote et/ou à sa moindre dégradation par l'anion superoxyde (figure 1).

D'autres mécanismes pourraient contribuer à ces variations de réactivité vasculaire dues aux œstrogènes. Ainsi, les œstrogènes favorisent la relaxation dépendante de l'endothélium en réponse à l'acétylcholine au niveau de l'artère fémorale de lapin, la réponse à un ionophore du calcium

(qui active directement la monoxyde d'azote synthase endothéliale, indépendamment de l'activation d'un récepteur) demeurant inchangée [14]. La facilitation de la transmission de signaux en réponse à l'activation de récepteurs endothéliaux pourrait rendre compte de cet effet. Les œstrogènes peuvent également influencer la production de dérivés de l'acide arachidonique: l'augmentation de la production de dérivés vasorelaxants a été rapportée dans certains modèles et l'augmentation de la production de dérivés vasoconstricteurs dans d'autres [10, 15]. Cependant, l'inhibition de la voie de la cyclo-oxygénase n'abolit pas l'effet de l'œstrogène, suggérant que la potentialisation de l'effet vasorelaxant des œstrogènes ne dépendrait pas de cette voie [14, 15]. L'ensemble des effets précédemment décrits se rencontre avec des doses physiologiques d'œstradiol (0,1 à 0,5 nM), administrées pendant une période prolongée de un à plusieurs jours. Ils doivent être distingués des effets à court terme, parfois décrits en réponse à des doses pharmacologiques d'œstradiol ( $\approx \mu\text{M}$  voire davantage). A ces fortes concentrations, et/ou en administration aiguë, le 17- $\beta$  œstradiol peut agir, soit par ses propriétés anti-oxydantes propres (liées à sa structure chimique, indépendamment de l'activation de son récepteur), soit en activant le système adénylyl-cyclase ou certains canaux ioniques [10]. Le rôle d'éventuels récepteurs de membrane reste à démontrer. Chez la femme ménopausée, plusieurs études ont ainsi montré que l'administration aiguë d'œstradiol favorise la réponse vasodilatatrice à l'acétylcholine, aussi bien au niveau des artères coronaires que des artères de l'avant-bras [16].

### Œstrogènes et athérosclérose

Les différentes phases de l'évolution de la plaque d'athérosclérose ont été bien décrites sur le plan anatomopathologique [17]. Les lésions avancées, avec accumulation de lipides, désorganisation et épaississement de l'intima, déformation de la paroi des vaisseaux et complications par fissure, hématome ou thrombose au niveau de la plaque, constituent le

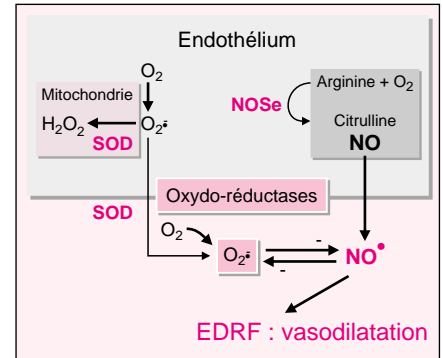


Figure 1. **Cibles de l'œstradiol dans l'endothélium.** L'œstradiol peut influencer la vasodilatation dépendante de l'endothélium (production d'endothelium-derived relaxing factor, EDRF) de deux façons: soit en augmentant la production de NO par l'intermédiaire d'une augmentation de l'expression du gène de la NO-synthase endothéliale (NOSe), soit en diminuant la génération d'anion superoxyde ( $O_2^{\bullet-}$ ), qui est le principal mécanisme d'inactivation de NO in vivo. Dans ce dernier cas, la diminution de l' $O_2^{\bullet-}$  peut être le fait d'une moindre production (par une oxydo-réductase membranaire, par exemple) ou d'une augmentation des mécanismes de défense anti-oxydante (par une superoxyde dismutase, SOD, par exemple). Dans tous les cas, la vasodilatation dépendante de l'endothélium sera favorisée du fait d'une plus grande quantité de NO disponible pour relaxer les cellules musculaires lisses vasculaires sous-jacentes.

stade ultime de l'évolution. Trois stades précèdent ce stade avancé: (1) l'apparition des premiers dépôts lipidiques et l'accumulation de macrophages dans l'espace intimal constituent le stade I. On l'observe dès l'enfance; (2) la constitution de stries graisseuses faites de couches stratifiées de macrophages spumeux et des premières cellules musculaires lisses accumulant les gouttelettes lipidiques constitue le stade II. On l'observe aussi dès l'enfance, notamment au niveau de l'aorte abdominale. Au moment de la puberté leur nombre croît au niveau de l'aorte et elles apparaissent au niveau des artères coronaires; (3) dans une troisième étape (stade III) l'intensité de

la prolifération des cellules musculaires lisses, tout particulièrement dans des sites d'élection comme la face dorsale de l'aorte abdominale, s'associe à une désorganisation de la structure de cette couche cellulaire par l'apparition des gouttelettes lipidiques extracellulaires. Cette étape est la dernière avant la constitution de la véritable plaque qui associe à son tour dépôts lipidiques (athérome) et sclérose (réaction fibreuse interstitielle). Entre 15 et 34 ans, la véritable plaque est retrouvée quel que soit le sexe au niveau de l'aorte abdominale où son incidence est faible. En revanche, son incidence est forte au niveau des artères coronaires et le rythme d'apparition est différent entre les deux sexes; l'incidence de ces lésions est deux fois plus faible chez la femme que chez l'homme [18].

Les médiateurs du développement de ces différentes étapes évolutives ont été précisés au cours de ces dernières années [19] (figure 2). La pénétration des lipides dans la région intimale représente la première étape, leur oxydation constitue probablement la transformation nécessaire aux étapes suivantes. L'oxydation des lipoprotéines athérogènes induit à son tour les mécanismes de pénétration des monocytes circulants, leur prolifération et leur transformation en macrophages. Des protéines d'adhérence des monocytes sont induites au pôle apical des cellules endothéliales, le monoxyde d'azote diminue cette adhérence. Des facteurs chimiotactiques et des cytokines interviennent aussi pour moduler le comportement des macrophages. On peut se demander si ces phénomènes sont physiologiques ou pathologiques mais, quelle que soit leur raison d'être, ils semblent constituer la première étape du développement de la plaque lorsqu'ils sont amplifiés, en cas d'hyperlipoprotéïnémie par exemple, ou lorsque les processus que nous venons d'évoquer se dérèglent: adhérence et pénétration des monocytes, prolifération et différenciation des macrophages... Des études expérimentales chez le singe, le lapin et le porc ont permis d'étudier ces phénomènes [20-24] et de préciser le rôle des œstrogènes à cette étape. On peut résumer ces tra-

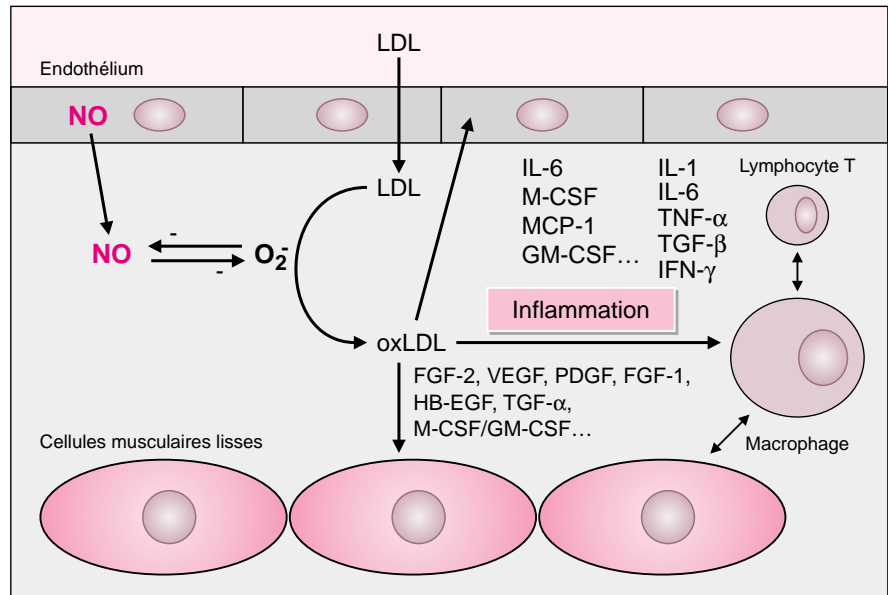


Figure 2. **Mécanismes potentiels de l'effet protecteur de l'œstradiol dans l'athérosclérose.** De l'ensemble des données actuelles, il ressort que les œstrogènes pourraient (1) diminuer l'oxydation (en diminuant la génération de  $O_2^{\bullet}$  et/ou en augmentant la production de NO) des lipoprotéines athérogènes (LDL, low density lipoproteins) qui induisent, à leur tour, les mécanismes de pénétration des monocytes et leur transformation en macrophages, (2) diminuer l'expression et/ou l'activité de certains facteurs chimiotactiques et de certaines cytokines qui favorisent le processus inflammatoire ou, au contraire, augmenter celles qui inhibent le processus inflammatoire, (3) influencer directement ou indirectement le comportement des lymphocytes T, qui pourraient ralentir le processus athérosclérotique. IL: interleukine; M-CSF: macrophage colony stimulating factor; GM-CSF: granulocyte, macrophage colony stimulating factor; TNF: tumor necrosis factor; TGF: transforming growth factor; IFN: interféron; FGF: fibroblast growth factor; VEGF: vascular endothelium growth factor; PDGF: platelet derived growth factor; EGF: epithelial growth factor; HB-EGF: heparin binding EGF.

vaux en disant que l'accumulation des lipides et leur oxydation sont diminuées, et la production de monoxyde d'azote augmentée. Comme nous l'avons vu précédemment, ces deux effets peuvent résulter d'une action des œstrogènes sur la production des ions superoxyde par les cellules endothéliales [13]. Les remaniements de la paroi vasculaire (matrice extracellulaire, prolifération des cellules musculaires lisses) sont, quant à eux, contrôlés par l'ensemble des cytokines qui assurent la transmission du signal intercellulaire entre cellules endothéliales, cellules musculaires lisses et macrophages résidant dans la région intimale [19]. Leur rôle n'a pas été clairement démontré, mais la participation des peptides vasopresseurs est

fort probable dans le développement des processus d'athérosclérose comme elle l'est dans les processus d'hypertension artérielle, ces deux manifestations pathologiques ayant d'ailleurs des liens très étroits. Parmi les cytokines, il faut distinguer les cytokines médiatrices de processus de l'immunité et de l'inflammation des facteurs de croissance. Dans la première catégorie il faut citer de façon non exhaustive, l'interleukine-1 (IL-1), le TNF- $\alpha$  (tumor necrosis factor), l'IL-6, le TGF- $\beta$  (transforming growth factor) [19]. Les protéines IL-1 et TNF- $\alpha$  altèrent l'équilibre hémostatique des cellules endothéliales, leur activité d'adhérence leucocytaire, et augmentent la production de médiateurs tels que prostanoïdes, PAF (platelet activating

factor)... Les rôles que jouent l'IL-6 et le TGF- $\beta$  au cours de l'athérosclérose sont mal définis. Ils pourraient être impliqués dans le contrôle de la prolifération cellulaire, dans la production des constituants de la matrice extracellulaire, mais aussi dans sa dégradation. Ils pourraient, en particulier, moduler l'effet de certaines cytokines inductrices des métalloprotéinases qui dégradent la matrice extracellulaire, favorisant ainsi l'instabilité de la plaque d'athérome. Il a été montré que l'œstradiol pouvait induire la production de certaines métalloprotéinases par des cellules de cancer du sein [25], démontrant la possibilité de régulation directe de l'expression génique par les œstrogènes. Cependant, l'implication de ce mécanisme au niveau de la paroi vasculaire est peu probable, car il favoriserait la rupture de la plaque d'athérome alors que les œstrogènes semblent non seulement prévenir l'apparition de plaques mais aussi protéger la plaque constituée contre la survenue d'accidents aigus. Dans la seconde catégorie se trouve une longue série de facteurs de croissance : FGF-1 et 2 (*fibroblast growth factor*); PDGF (*platelet-derived growth factor*), et ses isoformes -AA, -BB, -AB; EGF (*epidermal growth factor*) et HB-EGF (*heparin binding EGF*); VEGF (*vascular endothelial growth factor*)... (figure 2) [19]. Leur mécanisme d'action n'est pas toujours très bien précisé; certains ont, à l'évidence, des rôles paracrines et autocrines, certains des rôles intracrines (FGF-1 et 2).

Le rôle des œstrogènes à cette étape du développement du processus athéromateux n'a pas été étudié. Les éléments que l'on peut retenir sont, soit liés à des effets systémiques de l'hormone (par exemple l'influence sur les taux d'angiotensinogène), soit liés à des actions sur le système immunitaire dont il est difficile de dire les rapports avec les processus évoluant dans la paroi artérielle. Il peut exister des analogies entre l'effet des œstrogènes dans la paroi vasculaire et leur rôle, mieux connu, dans un autre parenchyme qu'est le tissu osseux [26]. Au niveau de l'os, les œstrogènes modulent les signaux échangés entre ostéoblastes et ostéo-

clastes pour assurer un bon état de minéralisation : diminution de la production d'IL-6 [27] et du système récepteur de l'IL-6, modulation de l'effet de la parathormone et du TGF- $\beta$  [26]. Dans une récente série de travaux, nous avons pu observer, qu'en fait, les œstrogènes n'influencent ni la production de l'IL-6, ni celle du TGF $\beta$  par les cellules musculaires lisses maintenues en culture. Ce résultat est donc différent des observations faites sur les ostéoblastes (en préparation).

### **Développement de modèles animaux pour l'étude des mécanismes moléculaires de l'action des œstrogènes**

Pour mieux comprendre le mécanisme d'action des œstrogènes *in vivo*, il faut disposer de modèles animaux susceptibles de développer des lésions suffisamment proches des lésions humaines, pendant un intervalle de temps suffisamment court pour que l'on puisse étudier l'influence de ces hormones sur les différentes étapes du développement de la plaque. Le singe, le lapin et le porc soumis à un régime riche en cholestérol constituent de bons modèles d'étude du développement de l'athérosclérose. Ils ont permis de mettre en évidence l'effet protecteur des œstrogènes et d'en suggérer les mécanismes responsables, en particulier, l'augmentation de la production endothéliale de monoxyde d'azote [20-24]. Plus récemment, d'autres modèles de souris génétiquement modifiées sont apparus, en particulier, des souris déficientes en apolipoprotéine E (*m/s n° 10, vol. 8, p. 1119; n° 6, vol. 11, p. 928*) [28, 29]. De fait, l'étude de souches de souris consanguines aptes à développer le processus athéroscléreux sous régime hyperlipidique (C57Bl/6), dont sont issues les souris déficientes, a déjà permis de faire des progrès dans l'étude de la physiopathologie de la maladie [30]. Ainsi, chez les souris déficientes en apolipoprotéine E castrées, l'œstradiol diminue l'apparition de lésions d'athérosclérose de façon très significative [31, 32]. Il s'agit donc d'un bon modèle pour étudier le rôle des œstrogènes dans

le processus d'athérosclérose. Il devrait nous permettre de progresser dans la compréhension des mécanismes mis en jeu dans le développement de la maladie et susceptibles d'être influencés par les œstrogènes. Le croisement de ces animaux avec d'autres souris génétiquement modifiées (déficientes, par exemple, en une cytokine) permettra de tester, chez ces animaux hétérozygotes ou doubles homozygotes, l'implication de cette cytokine dans le processus athéroscléreux et son influence éventuelle au niveau de l'effet vasculoprotecteur des œstrogènes. Ces modèles animaux sont indispensables pour confirmer la réalité, *in vivo*, de mécanismes d'action des œstrogènes mis en évidence dans des systèmes de culture cellulaire.

Définir la cible des œstrogènes dans la paroi artérielle reste une entreprise d'intérêt majeur. La reconnaissance de cette nouvelle cible pourrait constituer l'objectif du développement de nouveaux agents pharmacologiques et ouvrir de nouvelles stratégies thérapeutiques. On peut, dès à présent, envisager qu'une large proportion de la population féminine du monde occidental est, ou sera, soumise à l'hormonothérapie substitutive de la postménopause. Cette thérapeutique n'étant pas sans risques (thrombose, cancer), les bases expérimentales précédemment exposées seront nécessaires pour résoudre ce véritable problème de santé publique ■

### **RÉFÉRENCES.**

1. Stampfer M, Grodstein F. Cardioprotective effect of hormone replacement therapy. Is not due to a selection bias. *Br Med J* 1994; 309: 808-9.
2. Criqui MH, Heiss G, Cohn R, Cowan LD, Suchindran CM, Bangdiwala S, Kritchevsky S, Jacobs DR, Kim O'Grady H, Davis CE. Plasma triglycerides level and mortality from coronary heart disease. *N Engl J Med* 1993; 328: 1220-5.
3. Colburn P, Buonassisi V. Estrogen-binding sites in endothelial cell cultures. *Science* 1978; 201: 817-9.
4. Orimo A, Inoue S, Ikegami A, Hosoi T, Akishita M, Ouchi Y, Muramatsu M, Orimo H. Vascular smooth muscle cells as target for estrogen. *Biochem Biophys Res Commun* 1993; 195: 730-6.
5. Bayard F, Clamens S, Meggetto F, Blaes N, Delsol G, Faye JC. Estrogen synthesis, estro-



gen metabolism and functional estrogen receptors in rat arterial smooth muscle cells in culture. *Endocrinology* 1995; 136: 1523-9.

6. Karas RH, Baur WE, VanEickles M, Mendelsohn ME. Human vascular smooth muscle cells express an estrogen receptor isoform. *FEBS Lett* 1995; 377: 103-8.

7. Langille BL, O'Donnell F. Reductions in arterial diameter produced by chronic decreases in blood flow are endothelium-dependent. *Science* 1986; 231: 405-7.

8. 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.

9. Corvol P. L'endothélium, plaque tour-nante de la vasomotricité et de la trophicité de la paroi artérielle. *Med Sci* 1993; 9: 1031-3.

10. White MM, Zamudio S, Stevens T, Tyler R, Lindenfeld J, Leslie K, Moore LG. Estrogens, progesterone, and vascular reactivity: potential cellular mechanisms. *Endocrine Rev* 1995; 16: 739-51.

11. Gøtz R, Morano I, Calovini T, Studer R, Holtz J. Increased expression of endothelial constitutive nitric oxide synthase in rat aorta during pregnancy. *Biochem Biophys Res Commun* 1994; 205: 905-10.

12. Weiner CP, Lizasoain I, Baylis SA, Knowles RG, Charles IG, Moncada S. Induction of calcium-dependent nitric oxide synthases by sex hormones. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 5212-6.

13. 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.

14. 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.

15. Miller VM, Vanhoutte PM. 17 $\beta$ -estradiol augments endothelium-dependent contractions to arachidonic acid in rabbit aorta. *Am J Physiol* 1990; 258: R1502-7.

16. Gilligan DM, Badar DM, Panza JA, Quyyumi AA, Cannon RO. Effects of estrogen replacement therapy on peripheral

vasomotor function in postmenopausal women. *Am J Cardiol* 1995; 75: 264-8.

17. Stary HC, Chandler AB, Glagov S, Guyton JR, Insull W, Rosenfeld ME, Schaffer SA, Schwartz CJ, Wagner WD, Wissler RW. A definition of initial, fatty streak, and intermediate lesions of atherosclerosis. A report from the Committee on vascular lesions of the council on arteriosclerosis, American Heart Association. *Circulation* 1994; 89: 2462-78.

18. Strong JP. Natural history of aortic and coronary atherosclerotic lesions in youth. *Arterioscl Thromb* 1993; 13: 1291-8.

19. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature* 1993; 362: 801-9.

20. Hough JL, Zilversmit DB. Effect of 17 $\beta$ -estradiol on aortic cholesterol content and metabolism in cholesterol-fed rabbits. *Arteriosclerosis* 1986; 6: 57-63.

21. 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.

22. 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.

23. Hayashi T, Fukuto JM, Ignarro LJ, Chaudhuri G. Basal release of nitric oxide from aortic rings is greater in female rabbits than in male rabbit: implications for atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 11259-63.

24. 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.

25. Basset P, Bellocq JP, Wolf C, Stoll I, Hutin P, Limacher JM, Podhajec OL, Chénard HP, Rio MC, Chambon P. A novel metalloproteinase gene specifically expressed in stromal cells of breast carcinomas. *Nature* 1990; 348: 699-702.

26. Monolagas SC, Jilka RL. Bone marrow, cytokines, and bone remodeling. *N Engl J Med* 1995; 332: 305-11.

27. Girasole G, Jilka RL, Passeri G, Boswell S, Boder G, Williams DC, Manolagas SC. 17 $\beta$ -estradiol inhibits interleukin-6 production by bone marrow-derived stromal cells and osteoblasts *in vitro*: a potential mechanism for the antiosteoporotic effect of estrogens. *J Clin Invest* 1992; 89: 883-91.

28. Plump AS, Smith JD, Hayek T. Severe hypercholesterolemia and atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice created by homologous recombination in ES cells. *Cell* 1992; 71: 343-53.

29. Zhang SH, Reddick RL, Piedrahita JA, Maeda N. Spontaneous hypercholesterolemia and arterial lesions in mice lacking apolipoprotein E. *Science* 1992; 258: 468-71.

30. 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.

31. Bourassa PAK, 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, Pierraggi MT, Duverger N, Fievet C, Holvoet P, Faye JC, Bayard F. Estradiol-17 $\beta$  prevents fatty streak formation and monocyte/macrophage accumulation in the arterial wall of apolipoprotein E-deficient mice. *Arterioscl. Thromb. sous presse*.

**Jean-François Arnal**  
**Rima Elhage**  
**Jean-Charles Faye**  
**Francis Bayard**

*Inserm U. 397, Institut Louis-Bugnard et Laboratoire de physiologie, Faculté de médecine, CHU Rangueil, 31000 Toulouse, France.*

**TIRÉS À PART**

F. Bayard.

