



Estrojenin Kardiyovasküler Sistem Üzerindeki Etkileri

Effects of Estrogen on the Cardiovascular System

A. Serpil BİRSEL¹Hadi MOİNİ²Kaya EMERK¹

Özet

Bir çok deneysel ve epidemiyolojik çalışma estrojenlerin kalp-damar sistemi üzerinde koruyucu etkileri olduğunu göstermektedir. Estrojenin koruyucu etkilerinin bir kısmı lipid profili üzerindeki olumlu etkilerine bağlı olsa da, son yıllarda yapılan çalışmalar estrojenlerin damar duvarında bulunan hücreler üzerinde direkt etkilerinin olduğunu ve bu hücrelerden vazoaaktif maddelerin salgılanmasını etkileyerek damar tonüs ve cevabının düzenlenmesinde önemli rolü olduğunu göstermiştir. Estrojen, endotel hücrelerinden vazodilatör prostasiklin ve nitrik oksit salınmasını artırmakta fakat vazokonstriktör endotelin-1'i azaltmaktadır. Bunlara ilaveten estrojen damar düz kaslarının kasılmasını, hücre içine kalsiyum girişini engelleyerek etkilemektedir. Ayrıca, estrojen neointimal kalınlaşmayı düz kas hücrelerinin çoğalmasını, göçünü ve kollajen birikmesini yavaşlatarak engellemekte ve antiaterosklerotik bir etki göstermektedir.

Anahtar sözcükler : Estrojen, Ateroskleroz, Endotel, Damar Düz Kas Hücreleri, Damar cevabı, Damar Yapılanması.

Abstract

There is strong epidemiological and experimental evidence that estrogen has protective effects on the cardiovascular system. Although some of the beneficial effects of estrogen are mediated by favorable alterations in lipid profile, recent studies demonstrate that estrogen has direct effects on vascular cells and modulate the vascular reactivity and tonus by influencing the production of va-

soactive compounds. Estrogen increases the synthesis of vasodilators such as prostacyclin (PGI₂), nitric oxide but decreases production of the potent vasoconstrictor endothelin-1 (ET-1) in endothelium. Moreover, estrogen attenuates the contraction of vascular smooth muscle cells by inhibiting the calcium influx. In addition estrogen antagonizes atherosclerosis and neointimal thickening by inhibiting smooth muscle proliferation, migration and collagen accumulation.

Key words: Estrogen, Atherosclerosis, Endothelium, Vascular Smooth Muscle Cells, Vascular Reactivity, Vascular Structure

İÇİNDEKİLER

Giriş

1. Estrojenler ve damar endotel hücreleri üzerindeki etkileri
 - 1.1 Estrojen ve prostaglandin sentezi
 - 1.2 Estrojen ve NO
 - 1.3 Estrojen ve endotelin-1
 2. Estrojenler ve damar reaktivitesi
 - 2.1 Estrojenin endotel aracılığı ile damar reaktivitesi üzerindeki etkisi
 - 2.2 Estrojenin düz kas hücresi aracılığı ile damar reaktivitesi üzerindeki etkisi
 3. Estrojen ve damar yapılanması
 - 3.1 Estrojen ve damar düz kas proliferasyonu
 - 3.2 Estrojen ve kollajen sentezi
 - 3.3 Estrojen ve anjiogenez
 4. Estrojenlerin plasma kolesterol düzeylerine etkisi
 5. Estrojenlerin antioksidan etkileri
- Sonuç

1 Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, 81036 Haydarpaşa İstanbul
2 University of California Berkeley, Membrane Bioenergetics Group, CA, USA

GİRİŞ

Yıllardan beri estrojenlerin kardiyovasküler sistem üzerinde koruyucu etkileri olduğu bilinmektedir. Bir çok epidemiyolojik çalışma, menapoz öncesi kadınlarda kardiyovasküler hastalıkların aynı yaştaki erkeklere oranla çok daha düşük olduğunu fakat gerek fizyolojik gerek cerrahi girişim sonucunda erken menapoza giren kadınlarda koroner arter hastalıklarının arttığını göstermiştir (1). Kadınlarda daha az kardiyovasküler hastalık gözlenmesinin nedeni, genetik farklılıklar, estrojenlerin varlığı, testosteron yokluğu veya bu faktörlerin bir arada bulunması olabilir. Ancak menapoz sonrası estrojen replasman tedavisi alan kadınlarda hastalık riskinde %50 azalma olduğunun gözlenmesi ve hayvan modellerinde yapılan deneysel çalışmalarda estrojenlerin aterogenezi yavaşlattığının gösterilmesi, bu koruyuculuktan estrojenlerin büyük oranda sorumlu olduğunu ortaya koymuştur (2-4). Ancak bu koruyucu etkinin mekanizması henüz tam olarak anlaşılamamıştır.

Estrojenlerin etkilerini, diğer steroid hormonlar gibi, hücre içinde bulunan reseptörlerine bağlanıp çekirdeğe giderek ve DNA üzerinde bulunan özel bölgelere bağlanarak ve bazı genlerin ekspresyonunu etkileyerek, dolayısıyla uzun sürede gösterdikleri bilinmektedir. Ancak son yıllarda yapılan çalışmalar, estrojenin klasik genomik etkilerine ilaveten, bu mekanizma ile açıklanamayan kısa sürede gerçekleşen, nongenomik etkilere sahip olduğu da göstermektedir. Akut estrojen uygulamasının sistemik damar resistansını azalttığı, çeşitli agonistlere karşı damar cevabını modüle ettiği ve koroner arterlerde vazodilatör etkisi bulunduğu ve iskemi bulgularını azalttığı gösterilmiştir (5-7). Dolayısıyla günümüzde estrojenlerin damar etkilerini akut ve kronik olarak sınıflandırmak mümkündür. Estrojenin akut etkilerinden sorumlu olabilecek büyük olasılıkla zarda bulunabilecek bir reseptör ile ilgili çalışmalar devam etmesine rağmen henüz tanımlanamamıştır.

Gelişmiş ülkelerde hala ölüm nedenlerinin başında gelmesine rağmen, kardiyovasküler hastalıkların patogenezi halen tam olarak anlaşılamamıştır. Ancak yüksek plazma kolesterol düzeylerinin ve endotel harabiyetinin hastalığın patogenezinde en önemli rolü oynadığı kabul edilmektedir. Estrojenlerin lipid metabolizması üzerindeki kanıtlanmış olumlu etkileri koruyucu mekanizma olarak kabul edilmiş ise de, son yıllarda bu

hormonun damar duvarında bulunan endotel ve düz kas hücreleri üzerinde direkt etkileri olduğu gösterilmiştir. Dolayısı ile hormonun kardiyovasküler sistem üzerindeki etkileri direkt ve indirekt olarak sınıflanabilir. Ayrıca estrojenlerin damar üzerindeki direkt etkilerinin endotel aracılı ve endotelden bağımsız olarak ikiye ayırmak mümkündür.

1. Estrojen ve Damar Endoteli

Endotel kan ve damar duvarı arasındaki ara yüzde benzersiz bir şekilde yerleşmiş bir dokudur. Yerleşim yeri gereği çeşitli önemli işlevleri yerine getirmektedir. Sıvı ve çözünmüş maddelerin dokulara geçmesinde kontrollü bariyer görevi yerine getirmesinin yanısıra damar tonusunun, koagülasyonun, inflamasyonda lökosit adhezyonun ve damar düz kas hücrelerinin gelişiminin regülasyonunda rol oynamaktadır. Endotel bu olaylarda pasif bir katılımcı olmaktan ziyade vazoaaktif ajanları salgılayarak, diğer hücre tiplerinin davranış biçimini etkileyerek ve ekstrasellüler matriksin üretim ve bileşimini regüle ederek tamamen dinamik bir görev üstlenmektedir. Endotelden prostasiklin (PGI₂), endotel kaynaklı gevşetici faktör (nitrik oksid; NO), endotel kaynaklı hiperpolarize edici faktör (EDHF) ve endotelin-1 (ET-1) gibi çeşitli vazoaaktif ajanlar sentezlenip salınmaktadır. Sağlıklı ve intakt endotel tabakası vazoregülatör, antikoagülan ve lökosit adhezyonunu önleyici bir yüzey oluşturmaktadır (8).

Endotel disfonksiyonu damar hastalıklarının gelişimi ve ortaya çıkışında önemli bir faktör olarak kabul edilmektedir (9, 10). Aterosklerozda (11, 12), hipertansiyon (13, 14), hiperkolesterolemi (15, 16) ve diabet (17, 18) gibi ateroskleroza zemin hazırlayan hastalıklarda endotele bağlı gevşeme cevabının yetersiz olduğu gösterilmiştir. Aterosklerotik arterlerin vazomotor cevabının yetersizliği koroner vazospazmın patogenezinde katkıda bulunarak geçici miyokard iskemisine, tromboza veya miyokard infarktüsüne yol açabilmektedir (9, 18, 19). Bu nedenle postmenapozal kadınlarda hormon tedavisi ile gözlenen yararlı klinik etkilerin açıklanmasında estrojenin endotel fonksiyonları üzerindeki modülatör etkisi önem kazanmaktadır.

Tavşan (20), sıgır aortası (21) ve insan göbek kordon veninden (22) izole edilen endotel hücre sitozollerinde yüksek afinite ile estrojeni bağlayan sınırlı sayıda bağlanma bölgelerinin bulunması damar



endotelinin estrojene duyarlı olduğunu göstermektedir. Hayvan deneylerinde estrogen uygulamasının lipoprotein ile stimüle edilen düz kas hücre proliferasyonunun azalmasına (23), endotel hasarına eşlik eden intimal proliferasyonun inhibe olmasına (24), kolesterol esterlerinin hücreye giriş ve hidrolizinin azalmasına (25), trombosit agregasyonunun inhibe olmasına (26) ve PGI₂ salınımının artmasına (27) neden olduğu gösterilmiştir. Bu bulgular damar endoteli estrogen reseptörlerinin fizyolojik olarak fonksiyonel olduklarına ve endojen estrogen düzeylerinin artmasının endotel ve düz kas hücrelerinin işlevini etkileyebileceğine dair ayrıca kanıt oluşturmaktadır.

1.1. Estrojen ve Prostaglandin Sentezi

Bazı çalışmalar prostaglandin sentezinin estrogen tarafından stimüle edilmesinin bu hormonun antiaterojenik etkisine aracılık ettiğini ileri sürmüşlerdir. Fogelberg ve ark. (28) diyet ile ateroskleroz oluşturulmuş tavşanlarda kronik estrogen verilisinin PGI₂ sentezini artırırken tromboksan sentezini azalttığını göstermiştir. Hormon in vitro olarak insan endotel hücre kültürlerinde (29) ve sıçan aorta düz kas hücre kültürlerinde (27) PGI₂ sentezini stimüle etmektedir. Bu etkinin prostaglandin siklooksijenaz ve prostasiklin sentetaz aktivitelerinin indüklenmesi ile meydana geldiği ileri sürülmüştür (30). Bununla beraber sentetik veya doğal estrogenlerin, insan uterin arteri (31) ve göbek kordon veni endotel hücrelerinde (32) prostasiklin sentezi üzerinde etkisinin bulunmadığını gösteren çalışmalar da mevcuttur. Elam ve ark. (33) dişi tavşanlara sentetik bir estrogen olan etinilestradiol verilmesinin in vivo olarak prostasiklin sentezinin azalmasına yol açtığını bildirmişlerdir. Estrogenin prostaglandin metabolizması üzerindeki etkisinin aydınlatılması ve değerlendirilmesi kuşkusuz daha çok çalışmanın yapılmasını gerektirmektedir.

1.2. Estrojen ve NO

Endotelden salınan NO gerek in vivo gerekse in vitro olarak vazodilatasyona neden olduğundan, vazokonstrüksiyonu bastırıldığından (34, 35), trombosit agregasyonunu (36, 37), lökosit adhezyonunu (38, 39) ve düz kas hücre proliferasyonunu (40) inhibe ederek aterogenezi geciktirdiğinden estrogenlerin etkilerine aracılık etmek için ideal bir adaydır. Bu nedenle son yıllarda yapılan birçok çalışmada estrogenin damar tonusu üzerindeki etkilerinde NO'nun

rolü araştırılmıştır. NO salgılanması veya endotele bağlı vazorelaksasyon cevabınının araştırıldığı çalışmalarda asetilkolin (ACh) yararlanılmıştır. ACh arter duvarında endotel ve düz kas hücresi üzerinde bulunan muskarinik reseptörleri aktive ederek etkisini göstermektedir. ACh'nin düz kas üzerindeki direkt etkisi kasılmadır. Ancak, ACh endoteli etkileyerek NO'nun salınımına ve sonuç olarak sağlıklı damarlarda gevşemeye neden olmaktadır. Bu nedenle estrogenin etkisine NO'nun aracılık edip etmediğini araştırılan çalışmalarda, zedelenmiş veya sağlam endotel tabakası taşıyan damar segmentleri kullanılmıştır. Bu çalışmalar L-arjinin/NO yolağının fonksiyonunun cinsiyete bağlı olarak farklı olabileceğini göstermiştir. Dişi tavşan aorta segmentlerinde bazal NO salınımının erkeklere göre daha fazla olduğu bildirilmiştir (41). NO öncülü olan L-arjinin'in sağlıklı kadınların arterinde ACh ile uyarılan kan akımındaki artışı kontrol erkeklere göre daha fazla artırdığı rapor edilmiştir. Anormal NO salınımı gözlenen hiperkolesterolemi'li erkeklerde ACh cevabı önemli derecede azalmışken kadınlarda bu cevap değişmemektedir (42). Dişi tavşan (41) ve spontan hipertansif sıçandan (43) izole edilen aorta segmentlerinde ACh ve kalsiyum iyonoforu A23187'nin cevapları erkeklerinki ile karşılaştırıldığında daha büyük NO salınımına neden olduğu gösterilmiştir. Bu preparatlarda L-arjinin analogları kullanılarak NO sentezi inhibe edildiğinde dişi aorta segmentlerinde erkeklere göre daha büyük bir kasılma meydana gelmektedir. Dişi tavşanlar overektomize edildiğinde gerek 17 β -estradiol (17 β -E2) gerekse NO düzeyi erkeklerde görülen düzeye kadar azalırken, spontan hipertansif erkek sıçanlara 17 β -E2 verilmesi, bazal ve ACh ile meydana gelen relaksasyonun dişilerde gözlenen düzeye kadar artmasına neden olmaktadır (44). Tüm bu bulgular L-arjinin/NO yolağının cinsiyetler arasında farklı olduğunu ve estrogen ile modüle edilebileceğini göstermektedir.

Hamile veya 17 β -E2 verilmiş hayvanlardan elde edilen dokularda NO sentetazın nöronal ve endotelial izoenzimlerinde 2 katlık bir artma meydana geldiği gösterilmiştir (45). Sığır endotel hücre kültürlerinde estrogenin NO sentetaz düzeyini artırdığı rapor edilmiştir. Ancak bu etki akut olmayıp artışın meydana gelmesi için 16-24 saat gerekmektedir (46). Aynı şekilde 17 β -E2 verilmiş sıçanlardan izole edilen aortalarda, endotel NO sentetazın mRNA dü-

zeyinin artışı rapor edilmiştir (47). İnsan aorta (48), göbük kordon ven ve sığır aorta endotel hücre kültürlerinde (49) 17β -E2 akut olarak tatbik edildiğinde NO düzeyinde bir değişiklik meydana gelmediği rapor edilmiştir. Bu hücre kültürlerinde 17β -E2'nin fizyolojik dozları ile ancak 8 saatlik bir preinkübasyon yapıldığında NO sentetaz mRNA'sı ve NO düzeyinde önemli bir artış meydana gelmektedir.

1.3. Estrojen ve Endotelin-1 (ET-1)

Endotelden salınan ET-1 bilinen en güçlü vazokonstriktör ajandır (50). ET-1 ayrıca düz kas üzerinde mitojenik etki göstermektedir (51, 52). Damar tonusu ve düz kas hücre proliferasyonu açısından bakıldığında ET-1, NO'ın tam tersine bir etki göstermektedir (53, 54). Aterosklerozun endotel disfonksiyonu ve düz kas hücre proliferasyonu ile karakterize olduğu göz önüne tutulursa (55), estrojenin koruyucu etkisini NO salınımını artırarak veya ET-1 salınımını azaltarak veya her iki etkinin kombinasyonu aracılığı ile göstermesi akla yatkın bir yaklaşımdır. Ancak estrojenin ET-1 üzerindeki etkisinin araştırılması fazla ilgi görmemiştir.

Bir takım bulgular ET-1'in hipertansiyon (56) ve ateroskleroz (57) patogenezinde rol oynayabileceğini göstermektedir. Plazma ET-1 ile ateroskleroz arasında bir korelasyon bulunduğu bildirilmiştir (57). Aterosklerotik domuz koroner arterine ACh infüzyonundan sonra plazma ET-1 düzeyinin artışı rapor edilmiştir (58). Polderman ve ark. (59) sağlıklı kadınlarda plazma ET-1 düzeyinin erkeklere göre, hamile kadınlarda ise aynı yaşlardaki hamile olmayan kadınlara göre daha düşük olduğunu göstermişlerdir. Aynı çalışmada seks hormonu alan transseksüellerde plazma ET-1 düzeyleri karşılaştırılmıştır. Kadından erkeğe cinsiyet değiştiren hastalarda testosteron tedavisi ile plazma ET-1 düzeyi artarken, erkekten kadınlığa cinsiyet değiştirenlerde 17β -E2 tedavisi ile ET-1 düzeyi azalmaktadır. Best ve ark. (60) estrojen kullanan postmenopzal kadınlarda plazma endotelin düzeylerinin düştüğünü bildirmişlerdir. Akishita ve ark. (61) sıçan aorta düz kas hücresinde 17β -E2'ün ET-1 mRNA'sı düzeyini azalttığını rapor etmişlerdir.

2. Estrojen ve Damar Reaktivitesi

Sağlıklı veya kardiyovasküler hastalığı olan insan veya hayvanlarda yapılan çok sayıda çalışmada,

17β -E2 gerek kronik gerekse akut olarak verildiğinde asetilkolin ile meydana gelen endotele bağlı vazorelaksasyon cevabını artırmaktadır. Ayrıca damar preparatlarında bu hormon endotelden bağımsız olarak direkt düz kas hücresini etkileyerek gevşemeye neden olabilmektedir.

2.1. Estrojenin Endotel Hücresi Aracılığı ile Olan Damar Reaktivitesi Üzerindeki Etkisi

Birçok araştırmacı akut veya kronik estrojen verililişinin çeşitli damar yataklarındaki kan akımı ve damar tonusu üzerindeki etkisini aydınlatmaya çalışmıştır. Williams ve ark. (5) ovariectomize dişi maymunları kolesterolce zengin diyet ile besleyerek oluşturdukları ateroskleroz modelinde uzun süre (2 yıl) 17β -E2 verililişinin aterosklerotik koroner damarların vazomotor cevabı üzerindeki etkisini kantitatif anjiyografi yöntemini kullanarak in vivo olarak araştırmışlardır. 17β -E2 verilmemiş hayvanların koroner arterine ACh infüze edildiğinde vazokonstriksiyon cevabı görülürken, 17β -E2 verilen hayvanlarda bu cevap hafif vazodilatasyon olarak gözlenmiştir. Bu çalışmada estrojenin ateroskleroz plağının boyutunu ve total plazma kolesterol düzeyini azalttığı, HDL kolesterol düzeyini artırdığı, ancak damar vazomotor cevabının plak boyutundan bağımsız olduğu gösterilmiştir. Köpek (62) ve domuz (63) koroner arterlerinde, tavşan femoral arterinde (64) ve sıçan aortasında (6) da 17β -E2'ün endotele bağlı vazorelaksasyon cevabını artırdığı izometrik tansiyon ölçülerek in vitro olarak gösterilmiştir. Bu çalışmalarda 17β -E2'ün potansiyalize ettiği vazorelaksasyon cevabı prostaglandin sentez inhibitörü olan indomethacin ile inhibe olmazken NO sentez inhibitörleri ile inhibe olmaktadır (63, 64). Bu da 17β -E2'ün etki mekanizmasının temelinde endotelden NO salınımının artırılması yatmakta olduğunu göstermektedir (7). 17β -E2 verilmiş ovariectomize tavşan femoral arterinde α_2 -adrenerjik reseptörü aracılığı ile meydana gelen vazokonstriktör cevabının kontrole göre daha az olduğu rapor edilmiştir (65). Yukarıda belirtilen tüm bu in vitro çalışmalarda deney hayvanlarına 1 günden 12 haftaya kadar farklı süreler boyunca 17β -E2 verilmiştir.

Bu şekilde kronik estrojen verililişinin damar vazomotor cevabı üzerindeki etkisini araştıran çalışmaların yanı sıra bu hormonun damar endoteli üzerinde hızlı ve direkt etkisini gösteren çalışmalar da mevcuttur. Williams ve ark. (66) diğer bir ça-



lışmalarında kolesterolce zengin diyet ile besleyerek ateroskleroz yaptıkları maymunların koroner damarına ACh infüze ettiklerinde vazokonstrüsyon cevabı görünürken, ACh verilmişinden önce sadece 20 dakika gibi kısa bir süre için etinilestradiol infüze ettiklerinde vazorelaksasyon cevabı gözlemişlerdir. Etinilestradiol tatbikinden önce ve sonraki koroner damar cevaplarının plazma lipid düzeylerinden, kan basıncından, kalp atım hızından veya ateroskleroz plağının boyutundan bağımsız olduğu bu çalışmada ayrıca gösterilmiştir. Etinilestradiolün bu etkisi postmenapozal kadınlarda da gösterilmiştir (67). Kanıtatif anjiyografi kullanılarak postmenapozal kadınların koroner arterlerinde fizyolojik dozlardaki 17β -E2'ün 20 dakikalık infüzyonundan sonra uygulanan ACh'in vazorelaksasyon cevabı potansiyalize edildiği gösterilmiştir (68). Bu çalışmada direkt düz kas hücrelerini etkileyerek vazorelaksasyon yapan nitroprussid'e cevabı üzerinde 17β -E2'ün bir etkisi bulunmadığı da rapor edilmiştir. Collins ve ark. (69) kardiyovasküler hastalığı olan kadın koroner arterlerinde 17β -E2 infüzyonu ile ACh'e karşı oluşan endotele bağlı vazorelaksasyon cevabının potansiyalize edildiğini, ancak erkek koroner arterlerinde ise hormonun etkisiz kaldığını bildirmişlerdir. Bu araştırmacılar endotele bağlı relaksasyon cevabının kolaylaştırılmasının cinsiyete özgü olabileceğini öne sürmüşlerdir. Ayrıca koroner arter hastalığı olan postmenapozal kadınlarda akut 17β -E2 uygulamasının miyokard infarktüsü üzerinde yararlı olduğu bildirilmiştir (70).

2.2. Estrojenin Düz Kas Hücresi Aracılığı ile Olan Damar Reaktivitesi Üzerindeki Etkisi

Birçok çalışma ile estrojenin damar düz kas reaktivitesini modüle ettiği gösterilmiştir. Shan ve ark. (71) 17β -E2'ün İ.V. injeksiyonundan 4-6 saat sonra sıçan kuyruk arterinin norepinefrine olan kasılma cevabında önemli derecede azalma meydana geldiğini bildirmişlerdir. Sıçan kuyruk arterinin 17β -E2 ile muamele edilmesi arjinin-vazopresin ve KCl ile olan kasılma cevabını da azaltmaktadır (71). Estrojenin akut vazodilatör etkisini gösteren diğer bulgular izole organ veya arter segment preparatlarının kullanıldığı in vitro çalışmalardan elde edilmiştir. Vazopresin ile kasılmış tavşan koroner arterinde 17β -E2 vazodilatasyona neden olmaktadır (72). Domuz koroner arteri 17β -E2 ile 5 dakika inkübe edildiğinde PGF2a ile meydana gelen kasılma cevabının inhibe olduğu gösterilmiştir (73). Ayrıca

tavşan koroner arter segmentlerinin 17β -E2 ile ön inkübasyonu, her iki cinsiyette endotelin-1 ve Ca^{2+} kanal agonisti BAY K8644 ile meydana gelen kasılmayı inhibe etmektedir (74, 75). Domuz koroner preparatlarında 17β -E2 ön inkübasyonu tromboksan A2 agonisti U46619 ve yüksek K^+ depolarizasyonu ile meydana gelen kasılmayı inhibe etmektedir (76).

Tüm bu çalışmalarda 17β -E2 farmakolojik dozlarda ($>10^{-6}M$) kullanılmıştır. 17β -E2'ün bu direkt ve akut etkisinin reseptörden bağımsız düz kas hücrelerinde bulunan voltaja bağımlı Ca^{2+} kanal blokajı ile meydana geldiği gösterilmiştir (75, 76)

3. Estrojen ve damar yapilanması

Yapılan çeşitli araştırmalar, 17β -estradiol'ün ateroskleroz oluşumu sürecinde damar duvarında meydana gelebilecek yapısal değişiklikler üzerinde olumlu etkileri olduğunu göstermektedir.

3.1. Estrojen ve Damar Düz Kas Proliferasyonu

Rhee ve ark. (77) tavşan aortasında cerrahi olarak indüklenen hiperplazinin estrojen ile baskılandığını bildirmişlerdir. 17β -E2'ün tavşan kalp (78) ve aorta allograftlarında (79) ve iliak arterinde (80) miyointimal proliferasyonunu engellediği gösterilmiştir. In vitro çalışmaların sonuçları, estrojenin damar düz kas hücre gelişiminin regülasyonundaki rolünü desteklemektedir. Fisher-Dzoga ve ark. (23) 17β -E2'ün hiperlipidemik serum ile stimüle edilen tavşan aorta düz kas hücre kültürlerinin proliferasyonunu inhibe ettiğini bildirmişlerdir. Vargas ve ark. (81) 17β -E2'ün doza bağlı olarak domuz koroner arter segmentlerinde 3H -timidin inkorporasyonunu inhibe ettiğini rapor etmişlerdir. Bu preparatlarda tamoksifenin 17β -E2'ün etkisini kısmen inhibe etmesi, hormonun antiproliferatif etkisinin estrojen reseptörleri aracılığı ile meydana geldiğini göstermektedir.

Sıçan pulmoner düz kas hücre kültüründe ve endotel tabakası uzaklaştırılmış pulmoner arter segmentlerinde 17β -E2'nin 3H -timidin inkorporasyonunu arttırdığı rapor edilmiştir (82). Bu preparatlarda sentetik non-steroid bir estrojen olan diestilbestrol ile aynı sonuçlar elde edilirken testosteronun etkisiz kalması, spesifik bir estrojenik cevabın varlığına işaret etmektedir. Estrojene karşı oluşan proliferasyon cevabındaki değişkenliğin kültür veya damar yatağından gelen farklılıklardan kaynaklanması muhtemeldir.

3.2. Estrojen ve Kollajen Sentezi

Birçok çalışma damar dokusunda estrojenin kollajen dağılımını etkilediğini gösterilmiştir. Wolinsky ve ark. (83) 17 β -E2'ün renal hipertansif sıçanların aortalarında kollajen birikimini azalttığını göstermişlerdir. Farklı hayvan türlerinin damarlarında, bu hormonun kollajen miktarını azaltıcı etkisi in vivo olarak gösterilmiştir (84-86). İn vitro olarak sığır aorta düz kas hücre kültürü 17 β -E2 ile muamele edildiğinde prolin hidroksilasyonunun azaldığı, ayrıca sentezlenen tip I prokollajenin tip II'ye olan oranının da değiştiği bildirilmiştir (87). Kollajen sekresyonunun ve ekstrasellüler matriks bileşiminin estrojen tarafından regüle edilmesi bu hormonun damar sistemi üzerindeki koruyucu etkisine katkıda bulunabilmektedir (88).

3.3. Estrojen ve Anjiyogenez

Morales ve ark.(89) 17 β -E2'ün insan umbilikal ven endotel hücrelerinin çeşitli kültür yüzeylerine bağlanmalarını artırdığını göstermişlerdir. Ayrıca 17 β -E2 endotel hücre tabakasındaki yara iyileşmesini artırmakta ve özel bir matriks üzerine konulduklarında bu hücrelerin tübuler biçimde organize olma yeteneğini güçlendirmektedir (89). İn vivo olarak farelerde overektomi sonrasında vaskülerizasyonun belirgin olarak azaldığı, estrojen tedavisi ile artarak normal düzeye ulaştığı gösterilmiştir (89). Bu bulgular estrojenin anjiyogenezdeki stimülatör rolünü desteklemektedir. Bununla beraber bu bulguların klinik uygulanabilirliğinin araştırılması gerekmektedir.

4. Estrojenlerin Lipid metabolizması üzerindeki etkileri

Estrojenlerin plazma kolesterol düzeylerini düşürdüğü bir çok araştırma ile gösterilmiştir. Hiperkolesteroleminin ateroskleroz oluşumundaki rolü göz önüne alındığında estrojenlerin damar koruyucu etkilerinde lipid düşürücü etkilerinin kısmen sorumlu olduğu ortaya çıkmaktadır. Kadınlarda ve yüksek kolesterolle beslenen hayvanlarda yapılan araştırmalar, estrojenlerin plazma total kolesterol düzeylerini, özellikle VLDL ve LDL fraksiyonlarını düşürdüğünü göstermiştir. Hormonun LDL düzeylerini düşürmesinin mekanizması ise karaciğer reseptörlerine bağlanmayı ve dolayısıyla temizlenmesini artırmasına bağlıdır. Estrojenlerin karaciğer apo B/E LDL reseptör sayısını artırdığı

gösterilmiştir. Ayrıca hormonun hepatik lipazı baskılayarak HDL düzeylerini olumlu olarak etkilediği ve %15'e varan artışlara neden olduğu bildirilmektedir (90).

5. Estrojen ve antioksidan etki

Estrojenlerin yapılarındaki fenolik halkaya bağlı olarak radikal tutucu, antioksidan etkilerinin olduğu bilinmektedir (91). Reaktif oksijen bileşiklerinin ve oksitlenmiş LDL'nin ateroskleroz gelişimindeki rolü ise tartışmasız kabul edilmektedir. Bazı antioksidanlarla muamele edildiğinde aterosklerotik damarların endotele bağlı vazorelaksasyon cevabı düzeltilmektedir. Aterosklerozda endotele bağlı vazorelaksasyon cevabının zayıflaması kısmen serbest oksijen radikallerin oluşumundaki artış ile ilgilidir (92). Serbest oksijen radikalleri damar duvarında direkt olarak NO'yi inaktive ederken indirekt olarak LDL partiküllerini oxide ederek endotelde hasara yol açabilmektedirler (93). Kolesterolce zengin diyet ile ateroskleroz oluşturulmuş overektomize domuzlara 16 hafta boyunca 17 β -E2 verildiğinde endotele bağlı vazorelaksasyon cevabının düzeldiği, bununla beraber LDL'in de oksidasyondan korunduğu rapor edilmiştir (94). Estrojen tedavisi gören postmenapozal kadınlarda da LDL'in oksidasyona olan duyarlılığının azaldığı bildirilmiştir (95). Ayrıca in vitro deneylerde estrojen varlığında LDL oksidasyonunun geciktirildiğini göstermektedir.

Diğer taraftan antioksidanların belirli koşullar altında pro-oksidan şekillerine dönüştükleri gösterilmiştir (96). LDL oksidasyonuna yol açan ve peroksidaz enzimi tarafından katalizlenen oksidatif reaksiyonlar bu koşullara bir örnektir (97). Bu sistemde vitamin E ve 17 β -estradiol gibi antioksidanlar ilgili fenoksi radikallerine dönüşmektedir. Söz konusu bu radikaller LDL veya lipitlerin oksidasyonuna yol açabilmektedir. Pro-oksidan etkinin önemi bilinmemekle beraber, peroksidaz enziminin ateroskleroz gelişiminde rol oynadığı bazı araştırmacılar tarafından ileri sürülmüştür (97). Peroksidazların estrojen tarafından indüklendiği uzun yıllardan beri bilinmektedir. (98, 99) Bu tablodan, 17 β -estradiol'ün varlığında peroksidazların stimüle edilmesi ve bunu takiben pro-oksidan reaksiyonların hız kazanması, ve dolayısıyla LDL oksidasyonunun artması sonucu ortaya çıkmaktadır. Ancak estrojenin, oksitlenmiş LDL'in dolaşımdan karaciğer tarafından temizlenmesini hızlandırdığı, bu nedenle estrojenlerin



pro-oksidan özellikleri ile de antiaterojenik etki yaratabileceği ileri sürülmüştür. Estrojen verilmiş sıçanlarda LDL'in kandan temizlenmesinde meydana gelen artış bu olasılığı desteklemektedir (90,100). Ayrıca, estrojenlerin HDL düzeylerini artırmaları ve HDL'nin okside LDLnin metabolizması üzerindeki etkileri estrojenlerin in vivo antioksidan etkilerinden kısmen sorumlu olabilir.

Sonuç

Sonuç olarak, estrojenlerin kalp-damar sistemi üzerindeki koruyucu etkisini açıklayabilecek çeşitli mekanizmalar bulunmaktadır. Estrojenin koroner arter hastalıklarında gözlenen koruyucu etkisinin %50-60'nin bu hormonun plazma lipit düzeyleri üzerindeki olumlu etkisinden kaynaklandığı ileri sürülmüştür (101). Hormonun HDL kolesterolü artırıp LDL kolesterolünü azaltarak plazma lipoprotein düzeyleri üzerinde olumlu etki göstermesi ve damar duvarında kolesterol birikimini engellemesi (102) günümüze kadar en önemli mekanizmalardan biri olarak kabul edilmiştir (103). Ancak son yıllarda yapılan çalışmalar bu oranın yaklaşık %25 olduğunu göstermektedir (1). Dolayısıyla estrojenin koruyucu etkisinin temelinde büyük ölçüde başka mekanizmalar da yatmaktadır. Fakat henüz net olarak, estrojenin moleküler düzeyde hangi mekanizma(lar) ile etki gösterdiği bilinmemektedir.

Bazı araştırmacılar estrojenin koruyucu etkisini hormonun Ca^{2+} antagonisti gibi davranması ile açıklamaya çalışmışlardır. Ancak, 17β -E2 sadece farmakolojik dozlarda ($>10^{-6}$ M) Ca^{2+} kanalları bloke edebilmektedir (73-76). Dolayısı ile, bu etki de tüm koruyuculuktan sorumlu tutulamaz (104). Menapoz öncesi kadınlarda plazma 17β -E2 düzeyinin 0.1-1 nM arasında olduğu (105), hamile kadınlarda bu düzey 10 nM'a kadar yükseldiği ve menapoz sonrasında 30 pM 'in altına indiği (106) göz önüne alınırsa, in vivo olarak damar düz kas hücresinde 17β -E2'nün Ca^{2+} kanal blokajı yapabilmesi olası görünmemektedir. Bu nedenle in vivo olarak fizyolojik dozlarda da gözlenebilen estrojenin endotel üzerinden gerçekleşen etkileri önem kazanmaktadır.

Kronik estrojen uygulamasının endotel hücrelerinde NO sentetaz geninin transkripsiyonunu arttırdığı gösterilmiştir (46-49). Dolayısıyla uzun süreli estrojen verilmesi ile endotele bağlı vazorelaksasyon cevabının düzeldiğini gösteren çalışmaların bulguları bu hormonun NO sentetaz gen ekspresyonunda artış

meydana getirmesi ve buna bağlı olarak NO salınımının artması ile açıklanabilmektedir. Hormonun endotelin-1 salgılanması üzerindeki direkt etkileri henüz tam olarak aydınlatılmış değildir, ama NO nun endotelin-1 salgılanması üzerindeki dengeliyici etkileri bilinmektedir. Dolayısı ile artmış NO sentez ve salgılanmasının damar tonüsü, trombojenitesi, düz kas proliferasyonu, trombosit aktivitesi ve lökosit adhezyonu üzerinde olumlu etkileri bulunmaktadır. Bununla beraber 15-20 dakika gibi kısa bir zamanda estrojenin damar tonus ve cevabını modüle edilmesi akut etkilerinde göz ardı edilemeyeceğini göstermektedir (66-69). 17β -Estradiol'ün akut etkilerinin mekanizmasında da NO salgılanmasının bulunduğu ileri sürülmektedir. Her ne kadar bu akut etkiler bir steroid hormondan beklenmez ve bu akut etkileri açıklayacak bir estrojen reseptörü henüz gösterilmemişse de, böyle akut etkilerin varlığı artık kabul edilmektedir. Sonuç olarak gerek akut, gerek kronik bir etki olarak estrojenin damar duvarı ve cevabının modülasyonu üzerindeki direkt olumlu etkileri en önemli koruyucu mekanizmalardan biri olarak sayılabilir.

Kuşkusuz, estrojenin antiaterosklerotik etkileri sadece endotel ve düz kas hücresinin rol oynadığı, damar reaktivitesinde meydana gelen değişiklikler ile sınırlı değildir. Bu etkilerin ortaya çıkışında hormonun damar yapılanması ve anjiyogenez üzerindeki direkt etkilerinin katkıları büyüktür. Ayrıca, estrojenin antioksidan özelliği hormonun kronik koruyucu etkilerine önemli katkıda bulunabilmektedir.

Kaynaklar

1. Barret-Connor, E., Bush, T.L., 1991. Estrogen and coronary heart disease in women. *JAMA*, 265: 1861-1867.
2. Hamm, TE., Kaplan, J.R., Clarkson, T.B., Bullock, B.C., 1983. Effects of gender and social behavior on the development of coronary artery atherosclerosis in the cynomolgus monkey. *Atherosclerosis*, 48: 221-233.
3. Stampfer, M.J., Colditz, G.A., Willett, W.C., Manson, J.E., Rosner, B., Speizer, F.E., Hennekens, C.H., 1991. Postmenopausal estrogen therapy and cardiovascular disease: ten year follow-up from the Nurses Health Study. *N. Engl. J. Med.*, 325: 756-762.
4. Grady, D., Rubin, S.M., Petitti, D.B., Fox, C.S., Black, D., Ettinger, B., Ernster, Y.L., Cumings, S.R., 1992. Hormone therapy to prevent disease and prolong life in postmenopausal women. *Ann. Inter. Med.*, 117, 1016-1037.
5. Williams, J.K., Adams, M.R., Klopfenstein, S., 1990. Estrogen modulates responses of atherosclerotic coronary arteries. *Circulation*, 81: 1680-1687.
6. Williams, S.P., Shackelford, D.P., Iams, S.G., Mustafa, S.J., 1988. Endothelium-dependent relaxation in estrogen-treated spontaneously hypertensive rats. *Eur. J.*

- Pharmacol., 145: 205-207.
- Gilligan, D.M., Bardar, D.A., Guetta, V., Quyyumi, A.A., Panza, J.A., Cannon, R.O., 1994a. Estradiol potentiation of endothelium-dependent vasodilation is dependent on nitric oxide production. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 23: 378A (abstr.).
 - Meredith, I.T., Yeung, A.C., Weidinger, F.F., Anderson, T.J., Uehata, A., Ryan, T.J., Selwyn, A.P., Ganz, P., 1993. Role of impaired endothelium-dependent vasodilation in ischemic manifestations of coronary artery disease. *Circulation*, 87 (suppl. V): V56-V66.
 - Vane, J.R., Anggard, E.E., Botting, R.M., 1990. Regulatory functions of the vascular endothelium. *N. Engl. J. Med.*, 323: 27-36.
 - Dzau, V.J., Gibbons, G.H., Cooke, J.P., Omoigui, N., 1993. Vascular biology and medicine in the 1990s: scope, concepts, potentials and perspectives. *Circulation*, 87: 705-719.
 - Ludmer, P.L., Selwyn, A.P., Shook, T.L., 1986. Paradoxical vasoconstriction induced by acetylcholine in atherosclerotic coronary arteries. *N. Engl. J. Med.*, 315:1046-1051.
 - Zeiber, A.M., Drexler, H., Wollschlager, H., Just, H., 1991. Modulation of coronary vasomotor tone in humans: progressive endothelial dysfunction with different early stages of coronary atherosclerosis. *Circulation*, 83: 391-401.
 - Panza, J.A., Quyyumi, A.A., Brush, J.E. Jr., Epstein, S.E., 1990. Abnormal endothelium-dependent vascular relaxation in patient with essential hypertension. *N. Engl. J. Med.*, 1990, 323: 22-27.
 - Panza, J.A., Casino, P.R., Kilcoyne, C.M., Quyyumi, A.A., 1993. Role of endothelium-derived nitric oxide in the abnormal endothelium-dependent vascular relaxation of patients with essential hypertension. *Circulation*, 87: 1468-1474.
 - Creager, M.A., Gallagher, S.J., Girerd, X.J., Coleman, S.M., Dzau, V.J., Cooke, J.P., 1992. L-arginin improves endothelium-dependent vasodilation in hypercholesterolemic humans. *J. Clin. Invest.* 90: 1248-1253.
 - Casino, P.R., Kilcoyne, C.M., Quyyumi, A.A., Hoeg, J.M., Panza, J.A., 1993. Role of nitric oxide in the endothelium-dependent vasodilation of hypercholesterolemic patients. *Circulation*, 88: 2541-2547.
 - Calver, A., Collier, J., Vallance, P., 1992. Inhibition and stimulation of nitric oxide synthesis in the human forearm arterial bed of patients with insulin-dependent diabetes. *J. Clin. Invest.*, 90: 2548-2554.
 - Johnstone, M.T., Creager, S.J., Scales, K.M., Cusco, J.A., Lee, B.K., Creager, M.A., 1993. Impaired endothelium-dependent vasodilation in patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *Circulation*, 88: 2510-2516.
 - Oliver, M.F., 1974. Ischemic heart disease in young women. *Br. Med. J.*, 4: 253-259.
 - Colburn, P., Buonassisi, V., 1978. Estrogen binding sites in endothelial cell cultures. *Science*, 201: 817-819.
 - Bayard, F., Clamens, S., Delsol, G., Blaes, N., Maret, A., Faye, J.C., 1995. Oestrogen synthesis, oestrogen metabolism and functional estrogen receptors in bovine aortic endothelial cells. In *Nonreproductive Actions of Sex Steroids*, Ciba Foundation Symposium, 191: 122-132.
 - Bilsel, S., Moini, H., Erşahin, Ç., Kayıhan, A., Eren, E., Emerk, K., 1995. Estrogen and progesterone receptors and binding kinetics in human saphen and umbilical vein endothelial cell. *Tr. J. Med. Sci.*, 23: 193-197.
 - Fisher-Dzoga, K., Wissler, R.W., Visselinovitch, D., 1983. The effect of estradiol on the proliferation of rabbit aortic medial tissue culture cells induced by hyperlipidemic serum. *Exp. Mol. Pathol.*, 39: 355-363.
 - Wegeinsberg, B.I., Lough, H., More, R.H., Katz, E., Pugash, E., Peniston, C., 1984. Effects of estradiol on myointimal thickening from catheter injury and on organizing white mural non-occlusive thrombi. *Atherosclerosis*, 52: 253-265.
 - Hough, J.L., Zilveasmit, D.B., 1986. Effect of 17 β -estradiol on aortic cholesterol content and metabolism in cholesterol-fed rabbits. *Atherosclerosis*, 6: 57-63.
 - Johnson, M., Ramey, E., Ramwell, P.W., 1977. Androgen-mediated sensitivity in platelet aggregation. *Am. J. Physiol.*, 232: H381-H385.
 - Chang, W-C., Nakao, J., Orimo, H., Muroto, S-I., 1980. Stimulation of prostacyclin activity by estradiol in rat aorta smooth muscle cell in culture. *Biochem. Biophys. Acta*, 619: 107-118.
 - Fogelberg, M., Vesterqvist, O., Diczfalusy, U., Henriksson, P., 1990. Experimental atherosclerosis: Effects of oestrogen and atherosclerosis on thromboxane and prostacyclin formation. *Eur. J. Clin. Invest.*, 20: 105-110.
 - Mikkola, T., Turunen, P. Avela, K., Orpana, A., Vinikka, L., Ylikorkala, O., 1995. 17 β -Estradiol stimulates prostacyclin, but not endothelin-1, production in human vascular endothelial cells. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 80: 1832-1836.
 - Chang, W-C., Nakao, J., Orimo, H., Muroto, S-I., 1980. Stimulation of prostaglandin cyclooxygenase and prostacyclin synthetase activities by estradiol in rat aortic smooth muscle cells. *Biochem. Biophys. Acta*, 620: 472-482.
 - Steinleitner, A., Stanczyk, F.Z., Levin, J.H., 1989. Decreased in vitro production of 6-keto-prostaglandin F1a by uterine arteries from postmenopausal women. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 161: 1677-1681.
 - Corvazier, E., Dupuy, E., Dosne, A.M., Maclouf, J., 1984. Minimal effect of estrogens on endothelial cell growth and production of prostacyclin. *Thromb. Res.* 34: 303-310.
 - Elam, M.B., Lipscomb, G.E., Chesney, C.M., Terragno, D.A., Terragno, N.A., 1980. Effect of synthetic estrogen on platelet aggregation and vascular release of PGI2-like material in the rabbit. *Prostaglandins*, 20: 1039-1051.
 - Griffith, T.M., Anderson, A.H., Hughes, D., Lewis, M.J., 1984. Isolated perfused coronary artery and aortic strip preparations: the role of endothelium-derived relaxant factor. *J. Physiol.*, 35: 13-24.
 - Martin, W., Furchgott, R.F., Villani, G.M., Jothianadan, D., 1986. Depression of contractile responses in rat aorta by spontaneously released endothelium-derived relaxing factor. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 237: 529-538.
 - Hogan, J.C., Lewis, M.J., Henderson, A.H., 1988. In vivo EDRF activity influences platelet function. *Br. J. Pharmacol.*, 94, 1020-1022.



37. Radomski, M.W., Palmer, R.M., Moncada, S., 1987. Endogenous nitric oxide inhibits human platelet adhesion to vascular endothelium. *Lancet*, 2: 1057-1058.
38. Tsao, P.S., McEvoy, L.M., Drexler, H., Butcher, E.C., Cooke, J.P., 1994. Enhanced endothelial adhesiveness in hypercholesterolemia is attenuated by L-arginine. *Circulation*, 89: 2176-2182.
39. Bath, P.M., Hassal, D.G., Gladwin, A.M., Palmer, R.M., Martin, J.F., 1991. Nitric oxide and prostacyclin: divergence of inhibitory effects on monocyte chemotaxis and adhesion to endothelium invitro. *Arterioscler. Tromb.*, 11: 254-260.
40. Grag, U.C., Hassid, A., 1989. Nitric oxide generating vasodilators and 8-bromo-cyclic guanosine monophosphate inhibit mitogenesis and proliferation of cultured rat vascular smooth muscle cells. *J. Clin. Invest.*, 83: 1774-1777.
41. Hayashi, T., Fukuto, J.M., Ignarro, L.J., Chandhuri, G., 1992. Basal release of nitric oxide from aortic rings is greater in female rabbits than in male rabbits: Implication for atherosclerosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89: 11259-11263.
42. Chowienckzy, P.J., Watts, G.F., Cockcroft, J.R., Brett, S.E., Ritter, J.M., 1994. Sex differences in endothelial function in normal and hypercholesterolemic subjects. *Lancet*, 344: 305-306.
43. Rubanyi, M.G., Kauser, K., 1993. Sexual steroid hormones are responsible for gender differences in EDRF/NO release from aorta of spontaneously hypertensive rats. *Endothelium*, 1: s1.
44. Kauser, K., Rubanyi, M.G., 1994. 17 β -Estradiol attenuates endothelial dysfunction in male spontaneously hypertensive rats. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 295A(abstr.).
45. Weiner, C.P., Lizasoain, I., Baylis, S.A., Knowles, R.G., Charles, I.G., Moncada, S., 1994. Induction of calcium-dependent nitric oxide synthases by sex hormones. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 91: 5212-5216.
46. Schray-Utz, B., Zeiher, A.M., Busse, R., 1993. Expression of constitutive NO synthase in cultured endothelial cells is enhanced by 17 β -estradiol. *Circulation*, 88 (suppl. I): I-80 (abstr.), 1993.
47. Goetz, R.M., Morano, I., Calovini, T., Studer, R., Holtz, J., 1994. Increased expression of endothelial constitutive nitric oxide synthase in rat aorta during pregnancy. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 205: 905-910.
48. Hishikawa, K., Nakaki, T., Marumo, T., Suzuki, H., Kato, R., Saruta, T., 1995. Up-regulation of nitric oxide synthase by estradiol in human aortic endothelial cells. *FEBS Letters*, 360: 291-293.
49. Hayashi, T., Yamada, K., Esaki, T., Kuzuya, M., Satake, S., Ishikawa, T., Hidaka, H., Iguchi, A., 1995. Estrogen increases endothelial nitric oxide by a receptor-mediated system. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 214: 847-855.
50. Yamagisawa, M., Kurihara, H., Kimura, S., Tomobe, Y., Kobayashi, M., Mitsu, Y., Yazaki, Y., Goto, K., Mosaki, T.A., 1988. Novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature*, 332: 411-415.
51. Hirata, Y., Takagi, Y., Fukuda, Y., Maruma, F., 1989. Endothelin is a potent mitogen for rat vascular smooth muscle cells. *Atherosclerosis*, 78: 225-228.
52. Alberts, G.F., Peifley, K.A., Johns, A., Kleha, J.F., Winkles, J.A., 1994. Constitutive endothelin-1 overexpression promotes smooth muscle cell proliferation via an external autocrine loop. *J. Biol. Chem.*, 269: 10112-10118.
53. Dubin, D., Pratt, R.E., Cooke, J.P., Dzau, V.J., 1989. Endothelin, a potent vasoconstrictor, is a vascular smooth muscle mitogen. *J. Vasc. Med. Biol.*, 1: 150-154.
54. Shichiri, M., Hirata, Y., Nakajima, T., 1991. Endothelin-1 is an autocrine/paracrine growth factor for human cancer cell lines. *J. Clin. Invest.*, 87: 1867-1871.
55. Ross, R., 1986. The pathogenesis of atherosclerosis- an update. *N. Engl. J. Med.*, 314, 488-500.
56. Kohno, M., Yasunari, K., Murakawa, K.I., Yokokawa, K., Horio, T., Fukui, T., 1990. Plasma immunoreactive endothelin in essential hypertension. *Am. J. Med.*, 88: 614-618.
57. Lerman, A., Edwards, B.S., Hallett, J.W., Heublein, D.M., Sandberg, S.M., Burnett, J.C. Jr., 1991. Circulating and tissue endothelin immunoreactivity in advanced atherosclerosis. *N. Eng. J. Med.*, 325: 997-1001.
58. Lerman, A., Webster, M.W.I., Chesebro, G.H., Edwards, W.D., Wei, C-M., Fuster, V., Burnett, J.C. Jr., 1993. Circulating and tissue immunoreactivity in hypercholesterolemic pigs. *Circulation*, 88: 2923-2928.
59. Polderman, K., Stehouwer, C., Kamp, G., Dekker, G., Verheugt, F., Gooren, L., 1993. Influence of sex hormones on plasma endothelin levels. *Ann. Intern. Med.*, 118: 429-432.
60. Best, P.J.M., Berger P.B., Miller, V.M., Lerman, A., 1998. The effects of estrogen replacement therapy on plasma nitric oxide and endothelin-1 levels in postmenopausal women. *Ann. Intern. Med.* 128:285-288.
61. Akishita, M., Ouchi, Y., Miyoshi, H., Orimo, A., Kozaki, K., Eto, M., Ishikawa, M., Kim, S., Toba, K., Orimo, H., 1996. Estrogen inhibits endothelin-1 production and c-fos gene expression in rat aorta. *Atherosclerosis*, 125: 27-38.
62. Miller, V.M., Vanhoutte, P.M., 1991. Progesterone and modulation of endothelium-dependent responses in canine coronary arteries. *Am. J. Physiol.* 261: R1022-R1027.
63. Bell, D.R., Rensberger, H.J., Kortnik, D.R., Koshy, A., 1995. Estrogen pretreatment directly potentiates endothelium-dependent vasorelaxation of porcine coronary arteries. *Am. J. Physiol.*, 268: H377-H383.
64. Gisclard, V., Miller, V.M., Vanhoutte, P.M., 1988. Effect of 17 β -estradiol on endothelium-dependent responses in the rabbit. *J. Pharmacol. Exp. Therap.*, 244: 19-22.
65. Gisclard, V., Flavahan, N.A., Vanhoutte, P.M., 1987. Alpha adrenergic responses of blood vessels of rabbits after ovariectomy and administration of 17 β -estradiol. *J. Pharmacol. Exp. Therap.*, 240: 466-470.
66. Williams, J.K., Adams, M.R., Herrington, D.M., Clarkson, T.B., 1992. Short-term administration of estrogen and vascular responses of atherosclerotic coronary arteries. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 20: 452-457.
67. Reis, S.E., Gloth, S.T., Blumenthal, L.S., Resar, J.R., Zacur, H.A., Gerstenblith, G., Brinker, J.A., 1994. Ethinyl estradiol acutely attenuates abnormal coronary vasomotor responses to acetylcholine in postmenopausal women. *Circulation*, 89: 52-60.

68. Gilligan, D.M., Bardar, D.A., Panza, J.A., Quyyumi, A.A., Cannon, R.O., 1994b. Acute vascular effects of estrogen in postmenopausal women. *Circulation*, 90: 786-791.
69. Collins, P., Rosano, G., Sarrel, M., Ulrich, L., Adamopoulos, S., Beale, C., McNeill, J., Poole-Wilson, P., 1995. 17 β -Estradiol attenuates acetylcholine-induced coronary arteriolar constriction in women but not men with coronary heart disease. *Circulation*, 92:24-30.
70. Rosano, G., Sarrel, P., Poole-Wilson, P., Collins, P., 1993. Beneficial effect of oestrogen on exercise-induced myocardial ischaemia in women with coronary artery disease. *Lancet*, 342: 133-136.
71. Shan, J., Resnick, L.M., Liu, Q.Y., Wu, X.C., Barbagallo, M., Pang, P., 1994. Vascular effect of 17 β -estradiol in male Sprague-Dawley rats. *Am. J. Physiol.*, 266: H967-H973.
72. Raddino, R., Manca, C., Poli, E., Bolognesi, R., Visioli, O., 1986. Effects of 17 β -estradiol on the isolated rabbit heart. *Arch. Int. Pharmacodyn.*, 281: 57-65.
73. Vargas, R., Thomas, G., Wroblewska, B., Ramwell, P.W., 1989. Differential effects of 17 α and 17 β -estradiol on PGF_{2a}-mediated contraction of the porcine coronary artery. *Adv. Prost. Thromb. Leuk. Res.*, 19: 277-280.
74. Jiang, C., Sarrel, P.M., Lindsay, D.C., Poole-Wilson, P.A., Collins, P., 1991. Endothelium-independent relaxation of rabbit coronary artery by 17 β -Oestradiol in vitro. *Br. J. Pharmacol.*, 104: 1033-1037.
75. Jiang, C., Sarrel, P.M., Poole-Wilson, P.A., Collins, P., 1992. Acute effect of 17 β -estradiol on rabbit coronary artery contractile responses to endothelin-1. *Am. J. Physiol.*, 263: H271-H275.
76. Han, S., Karaki, H., Ouchi, Y., Akisita, M., Orimo, H., 1995. 17 β -Estradiol inhibits Ca²⁺ influx and Ca²⁺ release induced by thromboxan A₂ in porcine coronary artery. *Circulation*, 91: 2619-2626.
77. Rhee, C.Y., Spaet, T.H., Stemerman, M.B., Lajam, F., Shang, H.H., 1977. Estrogen suppression of surgically induced vascular intimal hyperplasia in rabbits. *J. Lab. Clin. Med.*, 90: 77-84.
78. Foegh, M.L., Kheirabadi, B.S., Nakanshi, R., Vargas, R., Ramwell, P., 1987. Estrogen protects against experimental cardiac transplant atherosclerosis. *Transpl. Proc.*, 19: 90-95.
79. Jacobsson, J., Cheng, L., Lyke, K., Kuwahara, M., Kagan, E., Ramwell, P., Foegh, M.L., 1992. Effect of estradiol on accelerated atherosclerosis in rabbit heterotopic aortic allografts. *J. Heart Lung Transpl.*, 11: 1188-1193.
80. Foegh, M.L., Asorta, S., Howell, M.H., Ramwell, P., 1994. Estradiol inhibition of arterial neointimal hyperplasia after balloon injury. *J. Vasc. Surg.*, 19: 722-726.
81. Vargas, R., Wroblewska, B., Rego, A., Hatch, J., Ramwell, P.W., 1993. Oestradiol inhibits smooth muscle cell proliferation of pig coronary artery. *Br. J. Pharmacol.*, 109: 612-617.
82. Farhat, M.Y., Vargas, R., Dingaan, B., Ramwell, P., 1992. Oestradiol potentiates thymidine uptake in pulmonary vascular smooth muscle: Role of endothelium. *Br. J. Pharmacol.*, 107: 679-693.
83. Wolinsky, H., 1972. Effect of estrogen and progesterone treatment on the response of the aorta of male rats to hypertension. *Circ. Res.*, 30: 341-349.
84. Henneman, D.H., 1968. Effect of estrogen on *in vivo* and *in vitro* collagen biosynthesis and maturation in old and young female guinea pigs. *Endocrinology*, 83: 678-690, 1968.
85. Fischer, G., 1971. Dynamics of collagen and elastin metabolism in rat aorta. *J. Appl. Physiol.*, 31: 527-530.
86. Fischer, G., Swain, M.L., 1985. Effects of estradiol and progesterone on the increased synthesis of collagen in atherosclerotic rabbit aortas. *Atherosclerosis*, 54: 177-185.
87. Beldekas, J.C., Smith, B., Gerstenfeld, L.C., Soneshein, G.E., Franzblau, C., 1981. Effects of 17 β -estradiol on the biosynthesis of collagen in culture bovine aortic smooth muscle cells. *Biochemistry*, 20: 2162-2167.
88. Fischer, G., Cheran, K., Swain, M.L., 1981. Increased synthesis of aortic collagen and elastin in experimental atherosclerosis. *Atherosclerosis*, 39: 463-467.
89. Morales, D.E., McGowan, G.A., Grant, D.S., Maheshwari, S., Bhartiya, D., Cid, M.G., Kleinman, H.K., Schenaper, H.W., 1995. Estrogen promotes angiogenesis activity in human umbilical vein endothelial cells *in vitro* and in a murine model. *Circulation*, 91:755-763.
90. Nathan L., Chaudhuri G., 1997. Estrogens and atherosclerosis. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 37: 477-515.
91. Sugioka, J.M., Shimosegawa, Y., Nakano, M.M., 1987. Estrogens as natural antioxidants of membran lipid peroxidation. *FEBS Lett.*, 210: 37-39.
92. Harrison, D.G., Ohara, Y., 1995. Physiologic consequences of increased vascular oxidant stresses in hypercholesterolemia and atherosclerosis: implications for impaired vasomotion. *Am. J. Cardiol.*, 75: 75B-81B.
93. Steinberg, D., 1992. Antioxidants in the prevention of human atherosclerosis. *Circulation*, 85: 2337-2344.
94. Keane, J.F., Shwaery, G.T., Xu, A., Nicolosi, R.J., Loskalzo, J., Foxall, T.L., Vita, J.A., 1994. 17 β -Estradiol preserves endothelial vasodilator function and limits low-density lipoprotein oxidation in hypercholesterolemic swine. *Circulation*, 89: 2251-2259.
95. Sack, M.N., Rader, D.J., Cannon, R.O., 1994. Oestrogen and inhibition of oxidation of low-density lipoproteins in postmenopausal women. *Lancet*, 343: 269-270.
96. Santanam, N., Parthasarathy, S., 1995. Cellular sistein generation does not contribute to the initiation of LDL oxidation. *J. Lipid Res.*, 36: 2203-11.
97. Wieland, E., Parthasarathy, S., Steinberg, D., 1993. Peroxidase-dependent metal-independent oxidation of low density lipoprotein *in vitro*: a model for *in vivo* oxidation. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 90: 5929-33.
98. Anderson, W.A., Kang, Y.H., Desombre, E.R., 1975. Endogenous peroxidase: specific marker enzyme for tissues displaying growth dependency on estrogen. *J. Cell. Biol.*, 64:668-81.
99. Anderson, W.A., Gabriel, B.W., Nerurker, S.G., Wyche, J.H., Yates, P.E., Hanker, Y.S., 1986. Peroxidases induced in rat uterus by estrogen administration. Cytochemical and biochemical heterogeneity. *J. Submicrosc. Cytol.*, 18: 683-690.



100. Chao Y., Windler, E.E., Chen, G.C., Havel, R.J., 1979. Hepatic catabolism of rat and human lipoproteins in rats treated with 17 alpha-ethinyl estradiol. *J.Biol.Chem.*, 254:11360-66.
101. Bush, T.L., Barret-Connor, E., Cowan, L.D., Criqui, M.H., Wallace, R.B., Suchindran, C.M., Tyroler, M.A., Rifkind, B.M., 1987. Cardiovascular mortality and noncontraceptive use of estrogen in women: Results from the Lipid Research Clinics Program follow-up study. *Circulation*, 75: 1102-1109.
102. Adams, M.R., Kaplan, J.R., Manuck, S.B., Koritnik, D.R., Parks, J.R., Wolfe, M.S., Clarkson, T.B., 1990. Inhibition of coronary artery atherosclerosis by 17 β -estradiol in overiectomized monkeys: lack of an effect of added progesterone. *Arteriosclerosis*, 10: 1051-1057.
103. Knopp, R.H., 1988. The effect of postmenopausal estrogen therapy on the incidence of atherosclerotic vascular disease. *Obstet. Gynecol.* 72, 23s-30s.
104. Collins, P., Rosano, G.M.C., Jiang, C., Lindsay, D., Sarrel, P.M., Poole-Wilson, P.A., 1993. Hypothesis: cardiovascular protection by oestrogen: a calcium antagonistic effect. *Lancet*, 341: 1264-1265.
105. Genuth, S.M., 1986. The reproductive glands. In: Berne, R.M., Levy, M. (eds). *Physiology*. CV Mosby Co., Washington. Ch. 55.
106. Lonning, P.E., Dowsett, M., Jacobs, S., Schem, B., Hardy, J., Powles, T.J., 1989. Lack of diurnal variation in plasma levels of androstenedione, testosterone, estrone and estradiol in postmenopausal women. *J. Steroid Biochem.*, 34: 551-553.