

Dynamic and structural artery wall properties : short and long term effects of female sex hormones

Citation for published version (APA):

Willekes, C. (2000). *Dynamic and structural artery wall properties : short and long term effects of female sex hormones*. Datawyse / Universitaire Pers Maastricht.

Document status and date:

Published: 01/01/2000

Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

www.umlib.nl/taverne-license

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

repository@maastrichtuniversity.nl

providing details and we will investigate your claim.

Summary

In humans, distensibility and compliance of especially elastic arteries in the human body decreases during normal ageing. As a consequence, systolic and pulse pressure (i.e. the difference between systolic and diastolic blood pressure) increase as well as the workload of the heart. It has been a matter of debate whether there are differences between men and women in this respect. Discrepancies in literature may be due to not considering the influence of female sex hormones, as might occur during the menstrual cycle and the use of birth control pills. Evenso, women catch up with men regarding the risk of cardiovascular disease in the menopause. Previous studies have shown a decrease in arterial distensibility in the menopause. This is likely, because functional sex hormone receptors are, amongst others, present in the endothelium and vascular smooth muscle cells of large arteries.

It was the aim of this thesis to study the possible influence of female sex hormones as during the menstrual cycle, the use of the oral contraceptive pill and hormone substitution in the menopause on artery wall properties. In these phases in a woman's life, a distinction can be made between different levels of various types of (endogenous and exogenous) female sex hormones. We did not only investigate non-invasively the effect on dynamic function, as distensibility and compliance, but also on artery wall thickness. To this end a new ultrasound technique was developed allowing the local assessment of intima-media thickness simultaneously with artery wall function. The performance of this new technique was evaluated. The studies in this thesis were performed on the common carotid and common femoral arteries.

In **chapter 2**, the short term effects of physiologically changing female sex hormone levels during the normal menstrual cycle on artery wall properties are described. In five different phases of low and/or high oestrogen and progesterone blood plasma levels, the wall properties of the elastic common carotid and the muscular common femoral artery were investigated. Despite significantly changing female sex hormone levels during ultrasonographically proven ovulatory cycles, no short term effects on the dynamic wall properties of these arteries could be detected. Therefore, examination of arteries at different moments in the menstrual cycle does not provide an explanation for the difference in artery wall properties between men and women, as described in previous studies.

In **chapter 3** an observation made during the study described in chapter 2 is explored. While investigating artery wall properties during the menstrual cycle, transabdominal assessment of follicle presence and size required a full bladder. The size of the developing follicle and subsequent disappearance were used to determine the phase of the menstrual cycle and to monitor the time of ovulation. During this examination we did get the impression that bladder filling influenced femoral artery wall properties. Indeed, femoral artery distension was lower in menstrual cycles with a full bladder than in cycles with an empty bladder; the properties of the common carotid artery were not influenced under these circumstances. This observation in the femoral artery can possibly be explained by a local viscerovascular reflex during bladder filling, leading to increased local sympathetic tone. We concluded that bladder filling leads to stiffer femoral artery wall behaviour without measurable vasoconstriction.

In **chapter 4** a study on the effect of exogenous female sex hormones on artery wall properties is described. In a group of healthy female volunteers the effect of an oral contraceptive (Femodeen, Schering) was investigated on the dynamic artery wall properties of large elastic and muscular arteries. Artery wall distensibility of the carotid and femoral artery was determined before and after three months of use of this so-called third generation oral contraceptive. Three months of Femodeen administration did not affect wall properties in these arteries, also not at short term between the third week of pill use and the stopweek. In previous studies, three months use of an oral contraceptive significantly increased blood pressure. This effect could not be confirmed in our study. The type of progestagen (gestodene) in the oral contraceptive as used in our study has little androgenic properties. This may explain the absence of a rise in blood pressure, which can be seen as a positive effect. Therefore, the use of an oral contraceptive can also not be held responsible for the difference in artery wall behaviour as observed between men and women.

In **chapter 5** a newly developed non-invasive method to determine intima-media thickness (IMT) and dynamic artery wall properties at the same site of the vessel is described. Assessment at the same site is important, because IMT and dynamic function changes along the arterial tree. Only IMT was determined, because the outer layer of the artery wall, the adventitia, cannot be discerned easily from the surrounding tissue using ultrasound. The new technique to assess IMT was evaluated *in vitro* and *in vivo*. The technique is based on temporal averaging of the radiofrequency ultrasound signals received along a single line of observation. A laboratory setting was designed to assess the reliability as well as the reproducibility of the method. Using raw radiofrequency signals it is possible to measure the difference in distance between two layers of rubber stretched over a wire, mimicking the artery wall layers. The distance between both layers was varied between 0.3 and 1.0 mm using steps of 50 micrometer. The method was

found to be accurate and reproducible in this laboratory setting. In vivo, IMT was determined in volunteers within one session. Little intrasession variation in IMT (standard error of the estimate: in vitro; 0.020 mm, in vivo; 0.045 mm) was found.

In **chapter 6** the newly developed method was compared with already established methods to measure IMT. Male and female volunteers of both young and older age were compared using four different methods to assess IMT. First, the method was used in combination with two different ultrasound devices exhibiting different resolutions, to assess the effect on the measurement algorithm, if any. Second, the method was compared with the technique using calipers, placed on the ultrasound image to measure IMT, using ultrasound devices displaying adequate zoom capacity. Finally, a comparison was made with the established method based on video-image analysis. Our method and the established methods were comparable in performance. Using two different ultrasound devices did not affect the measurement algorithm. Much to our surprise, placing calipers on the ultrasound image compared equally well with all other methods. A cautious conclusion could be that the predominant restrictive factor in the manual methods is the accuracy of the investigator which is avoided in an automated technique as developed by us.

In **chapter 7** a study on the reproducibility of our method to measure IMT in time is presented. Also, the number of measurements needed to perform to reach significant conclusions regarding differences in time was estimated. Differences in IMT, if any, over short segments (i.e., 2 cm) in the carotid artery were determined to explore whether local differences in IMT could be assessed. From our data it may be concluded that our intersession intralocation repeatability coefficient (0.069 mm in the young group, 0.109 mm in the old group) is high enough to perform follow-up studies. Also, differences in IMT between the carotid artery bifurcation and 2 cm more upstream could be determined, especially in the younger age group. The difference in IMT over such a short artery segment may be explained by differences in wall shear stress at the two sites of measurements.

In **chapter 8** a study is described, in which the effect of long term administration of female sex hormones on artery wall properties, IMT and peripheral resistance in the uterine artery of women in the menopause is investigated. Before starting hormone replacement therapy when very low levels of female sex hormones were detected (at least one year after the menopausal transition) in venous blood plasma, IMT and dynamic artery wall properties were investigated. Then the subjects received hormone replacement therapy (HRT) containing two milligram of micronised oestradiol and 25-50 microgram of gestodene during approximately two years. At different moments in time with corresponding higher levels of oestrogen and progestagen, additional measurements were performed. To exclude ageing effects, a control group was included to determine the same

end-points. At the end of the study no significant effect on IMT and Young's modulus (as a measure of intrinsic elastic properties of the artery wall) could be detected. Relative (=strain) and absolute change in diameter (=distension) per heartbeat was decreased significantly after two years of HRT in the carotid artery, but not in the femoral artery. However, a significant increase in mean arterial pressure in the HRT group as observed in our study, may partly be responsible for the observed effect on distensibility. In the initial oestrogen-only phase, peripheral resistance in the uterine artery decreased significantly. During the oestrogen-progesterone combined phase a slighter decrease in peripheral resistance in the uterine artery was observed, not reaching the initial significant decrease in the first two weeks of HRT. In the HRT group, total cholesterol, LDL and the LDL/HDL-ratio decreased significantly after two years of HRT. No significant changes in the lipid profile could be determined in the control group. These results are in accordance with previous studies on HRT and the lipid profile.

In conclusion, the findings in our study indicates that neither endogenous nor exogenous female sex hormones can be held responsible for the previously observed discrepancies in artery wall properties between men and women. It can not be excluded, however, that longer use of exogenous female sex hormones (as in birth control pills) may influence artery wall properties.

HRT in menopausal women improves distension and strain of the carotid artery, which may be considered as beneficial, because it will reduce the workload of the heart. Whether this improvement of artery wall properties in combination with the improved lipid profile explains the lower risk of atherosclerotic disease in menopausal women receiving HRT remains subject to further investigation.

Samenvatting

Bij normale veroudering neemt de rekbaarheid van met name de elastische bloedvaten in het menselijk lichaam af. Als gevolg daarvan stijgt de bovenbloeddruk en de polsdruk (het verschil tussen de bovenbloeddruk en de onderbloeddruk) en daardoor ook de belasting voor het hart. Of er verschil is in vaatwandrekbaarheid bij mannen en vrouwen is nog onderwerp van discussie. In de literatuur beschreven verschillen kunnen het gevolg zijn van het feit dat het effect van vrouwelijke geslachtshormonen, zoals gedurende de normale menstruele cyclus en het gebruik van de pil, niet in beschouwing zijn genomen. Ook vindt bij vrouwen in vergelijking met mannen na de overgang een inhaalrace plaats ten aanzien van het risico voor hart- en vaatziekten. In eerdere studies is aangetoond dat de absolute en relatieve verandering in diameter per hartslag van de vaatwand daalt na de overgang. Dit is opnieuw een indicatie dat vrouwelijke geslachtshormonen invloed kunnen hebben op de vaatwandeigenschappen, temeer omdat er functionele geslachtshormoonreceptoren gevonden zijn in de endotheellaag en gladde spiercellen van de grote slagaders.

Het doel van dit proefschrift was om mogelijke effecten op te sporen van vrouwelijke geslachtshormonen op de vaatwandeigenschappen gedurende de normale menstruele cyclus, pilgebruik en hormoonsubstitutie na de overgang. In deze fasen in een vrouwenleven kan er onderscheid gemaakt worden tussen wisselende spiegels van verschillende types (endogene en exogene) geslachtshormonen. Om niet alleen een uitspraak te kunnen doen over eventuele effecten op dynamische vaatwandeigenschappen, maar ook over effecten op structurele vaatwandveranderingen werd een nieuwe meetmethode ontwikkeld, waarmee vaatwanddikte (de intima-media dikte) bepaald kan worden. Met deze nieuwe methode, die gebruik maakt van ultrageluid, kan tegelijkertijd met de vaatwandrekbaarheid de intima-media dikte op dezelfde plaats gemeten worden. Deze nieuwe techniek wordt eveneens in dit proefschrift beschreven en de toepasbaarheid geëvalueerd. De studies in dit proefschrift werden verricht op de hals- en liesslagaders bij mensen.

In **hoofdstuk 2** worden de korte termijn effecten van fysiologisch wisselende geslachtshormoonspiegels gedurende de normale menstruele cyclus op de vaatwandeigenschappen beschreven. In vijf verschillende fasen met een laag en/of een hoog oestrogeen en progesteron bloedplasma gehalte, werd gekeken naar de vaatwandeigenschappen van de elastische arteria carotis communis (=halsslagader) en de musculaire arteria femoralis communis (=liesslagader). Ondanks significant

verschillende hormoonspiegels bij echoscopisch bewezen ovulaties (=eisprong) werd er geen korte termijn effect gemeten op de dynamische vaatwandeigenschappen van de boven genoemde bloedvaten. De metingen in verschillende fases van de menstruele cyclus leveren dan ook geen verklaring op voor de gerapporteerde verschillen tussen mannen en vrouwen.

In **hoofdstuk 3** wordt een bevinding uit hoofdstuk 2 uitgediept. Bij het onderzoek naar de vaatwandeigenschappen gedurende het eerste deel van de cyclus moesten de proefpersonen een volle blaas hebben omdat er via de buik gekeken werd naar de grootte van rijpende eitjes in de eierstokken. Dit was nodig om de cyclus goed in kaart te kunnen brengen en het tijdstip van de eisprong optimaal te bepalen. Gedurende dit onderzoek kregen we de indruk dat blaasvulling een invloed had op de vaatwandeigenschappen van de liesslagader. De vaatwandrekbaarheid van de liesslagader was lager gedurende cycli mét volle blaas dan gedurende cycli gemeten zónder blaasvulling; dit effect werd niet gezien in de halsslagader. De meest waarschijnlijke verklaring voor het gevonden verschil is een locale vesicovasculaire (=blaas-vaat) reflex bij een volle blaas waarbij de locale sympaticotonus verhoogd is. Dit veroorzaakt naar ons idee een stijver vaatgedrag zonder dat er al een meetbare vaatvernauwing ontstaan is.

In **hoofdstuk 4** wordt het effect van exogene geslachtshormonen op vaatwandeigenschappen beschreven. In een groep gezonde vrijwilligsters werd gekeken naar het effect van pilgebruik (Femodeen, Schering) op de dynamische vaatwandeigenschappen van grote elastische en musculaire bloedvaten. Vaatwandrekbaarheid van de hals- en liesslagaders werden gemeten vóór en ná drie maanden gebruik van deze zogenaamde derde generatie pil. Drie maanden gebruik van Femodeen had geen effect op de vaatwandeigenschappen van deze bloedvaten, ook niet op korte termijn gedurende de derde week van pilgebruik vergeleken met de stopweek. In eerdere studies is beschreven dat er bij het gebruik van laag gedoseerde pillen na drie maanden reeds een significant effect op de bloeddruk werd gezien. Dit kon in onze studie niet bevestigd worden. Echter het type progesteron (gestodeen) in de pil van onze studie heeft weinig mannelijke eigenschappen waardoor het wegblijven van een stijging van de bloeddruk als gunstig effect gezien kan worden. Het gebruik van de pil door vrouwelijke vrijwilligsters is derhalve geen verklaring voor het verschil in vaatwandgedrag tussen vrouwen en mannen.

In **hoofdstuk 5** wordt een nieuwe niet-invasieve meetmethode beschreven welke naast dynamische vaatwandeigenschappen ook de vaatwanddikte op dezelfde plaats kan bepalen. Dit is met name interessant omdat vaatwanddikte en functie van plaats tot plaats in het arteriële systeem verschillen. Omdat de buitenste laag van de vaatwand, de adventitia, echoscopisch slecht af te grenzen is van zijn omgeving, moesten we ons beperken tot het meten van de dikte van de twee

overige vaatwandlagen, de intima en de media. Onze nieuwe vaatwanddikte methode werd in vitro zowel als in vivo beproefd. De techniek is gebaseerd op het middelen in de tijd van de ruwe radiofrequente echosignalen langs een enkele meetlijn. Een laboratoriumopstelling werd ontworpen om de betrouwbaarheid en de reproduceerbaarheid te testen. Met behulp van ruwe radiofrequente signalen bleek het mogelijk om de afstand tussen twee rubberen lagen gescheiden door een waterlaag in een watertank (de bloedvatwand voorstellend) te meten. Om een mogelijke spreiding van menselijke vaatwanddiktes te imiteren werd met vaste stappen van 50 micrometer over een bereik van 0.3 tot 1.0 mm de afstand gemeten. In de laboratoriumopstelling bleek onze methode nauwkeurig en reproduceerbaar te zijn. In vivo werd in een groep jonge vrouwen bij herhaling gemeten. Met onze methode kon weinig verschil in vaatwanddikte binnen een sessie gevonden worden (standaardfout van de meting: in vitro 0.020 mm, in vivo 0.045 mm)

In **hoofdstuk 6** werd de nieuw ontwikkelde methode vergeleken met reeds gevestigde methodes om vaatwanddikte te meten. In verschillende groepen mannelijke en vrouwelijke vrijwilligers van jongere en oudere leeftijd zijn 4 verschillende methodes voor het meten van de vaatwanddikte met elkaar vergeleken. Allereerst werd onze nieuwe methode getest op twee verschillende apparaten met een verschillend oplossend vermogen om te zien of er enig effect was van echogedrag op het meetalgoritme. Vervolgens werden calipers op het echo-beeld gezet om op een relatief eenvoudige manier de vaatwanddikte te bepalen op echo-apparaten met voldoende zoomvermogen. Tenslotte maakten we een vergelijking met de geldende methode die gebaseerd is op een off-line computeranalyse van het echobeeld. Het bleek dat onze nieuwe methode vergelijkbare meetresultaten opleverde als de geldende methode. Het meten met twee verschillende echo-apparaten wees uit dat er geen invloed was van het verschillend echogedrag op het meetalgoritme. Tot onze verrassing bleek dat het meten met calipers op het echobeeld vergelijkbare resultaten opleverde als de overige meetmethodes. Een voorzichtige conclusie zou kunnen zijn dat de meest bepalende factor bij het manueel meten van vaatwanddiktes de nauwgezetheid van de onderzoeker is bij het uitvoeren van deze metingen. In een geautomatiseerde methode als door ons ontwikkeld wordt de mogelijke onnauwkeurigheid geïntroduceerd door de onderzoeker uitgesloten.

In **hoofdstuk 7** wordt een studie naar de reproduceerbaarheid in de tijd van de door ons ontwikkelde methode om vaatwanddikte te meten gepresenteerd. Ook werd het aantal metingen dat nodig is om een uitspraak te doen over gevonden veranderingen in de tijd berekend. Tevens werd gekeken naar de verschillen in vaatwanddikte over een kort stuk (2 cm) in de halsslagader, om te zien of het mogelijk is om lokale verschillen op te sporen. Uit ons onderzoek

bleek dat de reproduceerbaarheid tussen sessies in de tijd, op dezelfde plaats gemeten, voldoende is om follow-up studies uit te voeren (reproduceerbaarheidscoëfficiënt: 0.069 mm in de jongere leeftijdscategorie, 1.09 mm in de oudere leeftijdscategorie). Daarnaast kon ook een significant verschil, met name in de jongere leeftijdscategorie, in vaatwanddikte gemeten worden in de halsslagader net vóór de splitsing van de halsslagader en 1 en 2 centimeter stroomopwaarts. Naar onze mening zijn verschillen in afschuifsnelheid op deze plaatsen in de a. carotis verantwoordelijk voor deze lokale verschillen in vaatwanddikte.

In **hoofdstuk 8** wordt een studie beschreven naar het lange termijn effect van vrouwelijke geslachtshormonen op vaatwandeigenschappen, vaatwanddikte en perifere weerstand in de baarmoederslagader bij vrouwen na de overgang. Allereerst werd bij vrouwen met nagenoeg geen enkele eigen hormoonproductie (minimaal een jaar na de overgang) het dynamische en structurele vaatgedrag gemeten voordat begonnen werd met hormoonsubstitutie. De proefpersonen kregen hormoonsubstitutie in de vorm van 2 milligram gemicroniseerd oestradiol gecombineerd met 25-50 microgram gestodeen gedurende bijna twee jaar. Op verschillende momenten in de tijd corresponderend met verschillende niveaus in hormoonspiegels van oestrogeen en progestageen werden metingen uitgevoerd. Om effecten van veroudering uit te sluiten werd er gebruik gemaakt van een controlegroep waarbij dezelfde eindpunten bepaald werden. Aan het eind van de studie werd geen effect op de vaatwanddikte en de Young's modulus (maat voor de intrinsieke vaatelasticiteit) gemeten. Wel werd na bijna twee jaar hormoongebruik een significante verbetering van de relatieve (=rek) en absolute verandering in diameter per hartslag (=distensie) in de halsslagader gevonden. De liesslagader vertoonde deze verandering niet. In de hormoonsubstitutie groep steeg de gemiddelde bloeddruk echter significant, waarmee een deel van het effect op de distensie verklaard zou kunnen worden. In de hormoongroep was er alleen op korte termijn een toename in de lokale bloedstroom naar de baarmoeder, waarbij de fase met alleen oestrogeen de grootste toename liet zien. Tijdens het gebruik van progesteron was er een lichte afname van de perifere weerstand in de arterie die de baarmoeder van bloed voorziet. Op langere termijn leek de relatieve toename in bloedstroom iets af te nemen, echter zonder dat het niveau van vóór de start van de hormoontherapie bereikt wordt. In de hormoongroep daalde het totale cholesterol, het LDL en de LDL/HDL-ratio, terwijl er in de controlegroep geen significante veranderingen werden gevonden. Dit bevestigt de eerdere rapportages van gunstige effecten van hormoonsubstitutie op het lipidenprofiel.

Concluderend: De eerder beschreven verschillen in vaatwandgedrag tussen mannen en vrouwen kunnen niet verklaard worden door een verschil in hormoonspiegels gedurende de menstruele cyclus en pilgebruik. Het is mogelijk dat langer gebruik van exogene vrouwelijke geslachtshormonen (zoals bijvoor-

beeld de pil) een effect op het (structureel) vaatwandgedrag heeft. Hormoonsubstitutie bij vrouwen in de overgang verbetert de relatieve en absolute rekbaarheid van de halsslagader, wat gezien kan worden als een positief effect, omdat de werkbelasting van het hart zou kunnen verminderen. Of deze verbetering in vaatwandeigenschappen in combinatie met het verbeteren van het lipidenprofiel het lagere risico op hart- en vaatziekten bij vrouwen met hormoonsubstitutie kan verklaren blijft een onderwerp voor nader onderzoek.