

Estrogeny a skóra – spowolnienie procesu starzenia

Oestrogens and skin – slowdown of skin aging

Anna Wojas-Pelc, Magdalena Nastątek, Joanna Sułowicz

Katedra i Klinika Dermatologii, *Collegium Medicum*, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie;
kierownik Katedry i Kliniki: dr hab. med. Anna Wojas-Pelc

Przeгляд Menopauzalny 2008; 6: 314–318

Streszczenie

Starzenie się skóry będące wynikiem upływu czasu, jak również działania wielu czynników zewnętrznych (UV, palenie tytoniu, dieta, stres) i wewnętrznych (hipoestrogenizm, niedobór hormonów podwzgórza) upośledza ją i ogranicza wiele jej funkcji. Zaburzenia gospodarki hormonalnej są ważnym i stosunkowo dobrze poznanym czynnikiem wpływającym istotnie na proces starzenia się skóry. Podkreślana jest zwłaszcza rola estrogenów, których stężenie zmniejsza się w okresie menopauzy, czemu towarzyszy nasilenie procesów starzenia zarówno związanych z wiekiem, jak i spowodowanych działaniem czynników środowiskowych.

Precyzyjny mechanizm indukcji produkcji kolagenu przez estrogeny nie jest znany. Wydaje się, że może on być związany z wpływem na stężenie TGF- β – czynnika wzrostu promującego produkcję kolagenu przez fibroblasty. Wyniki wielu badań potwierdzają korzystny wpływ egzogennych estrogenów na naskórek – zwiększają jego nawilżenie, zmniejszają przeznaskórkową utratę wody, zwiększają stężenie lipidów powierzchniowych, poprawiają funkcję skóry jako bariery i zapobiegają suchości. Zdecydowana większość badań podkreśla protekcyjny wpływ terapii hormonalnej (HT) na zjawiska związane ze starzeniem się skóry, dokumentują ich korzystny wpływ nie tylko na kolagen, ale i na elastyczność skóry oraz funkcję niektórych przydatków skóry. Jednak niebezpieczeństwo związane ze stosowaniem HT, szczególnie w grupach kobiet, u których stwierdza się dodatkowe czynniki predysponujące do rozwoju schorzeń o potwierdzonym związku z taką terapią, powoduje, że nie pozwala to na rozszerzenie wskazań do stosowania HT w celu poprawy funkcji i wyglądu skóry.

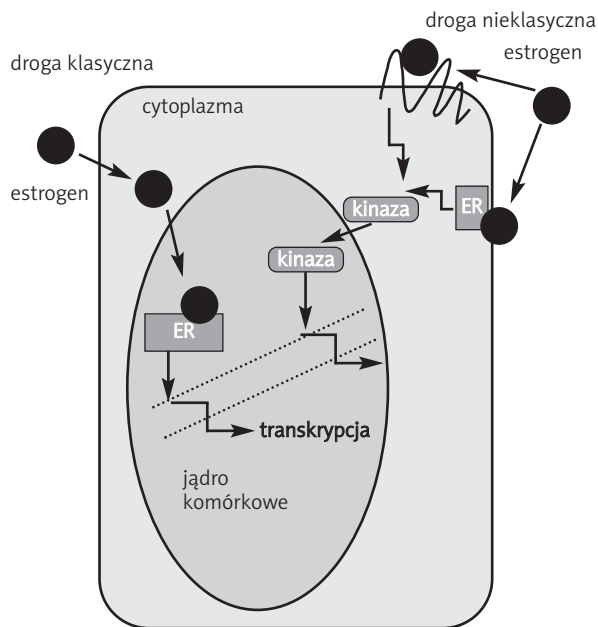
Słowa kluczowe: starzenie się skóry, estrogeny, terapia hormonalna

Summary

Skin aging due to the passage of time and influence of many external (ultraviolet radiation, tobacco smoke, diet, stress) and internal (hypoestrogenism, lack of hypothalamus hormones) factors handicaps many skin functions. Disturbances of hormone management are important and well known agents responsible for skin aging. Particularly emphasized is the role of oestrogens, whose concentration becomes low during the menopausal period, causing intensification of skin aging.

A distinct mechanism of induction of production of collagen via oestrogens is not known. There is a possibility of an influence on TGF- β (transforming growth factor beta), which stimulates fibroblasts to produce collagen. The data of many studies confirm the beneficial influence of exogenous oestrogens on the epidermis by decreasing transepidermal water loss, enhancing moisturizing abilities and surface lipid levels, improving skin function as a barrier and preventing dryness. Most studies give weight to the protective impact of hormone replacement therapy (HRT) on skin aging. Many studies have testified to good effects not only on collagen but also on skin elasticity and functions of some skin adnexa. However, a hazard connected with HRT in women with additional predisposing factors to development of diseases with a proven association with this therapy rule out the extension of use of HRT to improve skin functions and appearance.

Key words: skin aging, oestrogens, hormone therapy



Ryc. 1. Molekularny mechanizm oddziaływania estrogenów z receptorami błonowymi i jądrowymi (ER – receptor estrogenowy)

Skóra – największy organ ludzki – jest często ekranem, na którym można obserwować wiele zmian patologicznych dotyczących narządów wewnętrznych. Z drugiej strony – jako pokrywa ciała jest najbardziej narażona na wpływ czynników środowiskowych. Wygląd skóry – jej koloryt, ucieplenie, nawilżenie, natłuszczenie i obecność ewentualnych zmian skórnych pozwalają często na ocenę ogólnego zdrowia badanego. Starzeje się cały organizm, lecz oznaki tego procesu są szczególnie widoczne na skórze, trudne do ukrycia, niejednokrotnie dotkliwie obniżając jakość życia. Starzenie się skóry, będące wynikiem upływu czasu, a więc związane z wiekiem, jak i w wyniku działania wielu czynników zewnętrznych (UV, palenie tytoniu, dieta, stres) i wewnętrznych (hipoestrogenizm, niedobór hormonów podwzgórza) upośledza i ogranicza wiele jej funkcji. Czas potrzebny do przejścia keratynocyta z warstwy bazalnej do warstwy rogowej, tzw. *turn-over time*, wydłuża się, zaburzeniu ulegają funkcje skóry jako bariery, organu sensorycznego, odpowiedź immunologiczna, funkcja termoregulacyjna ulegają upośledzeniu, obniża się produkcja łoju, potu, a także witaminy D w skórze [1, 2]. Wiele popartych badaniami teorii tłumaczy zjawisko starzenia się organizmu, lecz niezależnie od przyjętych kryteriów przyczyny starzenia są liczne, wzajemnie się przenikają, wpływając jedne na drugie. Starzenie się skóry, podobnie jak całego organizmu, jest zależne od czynników genetycznych, środowiskowych i hormonalnych. Zaburzenia gospodarki hormonalnej są ważnym i stosunkowo dobrze poznanym czynnikiem wpływającym istotnie na proces starzenia się skóry.

Podkreślana jest zwłaszcza rola estrogenów, których stężenie spada w okresie menopauzy, czemu towarzyszy nasilenie procesów starzenia zarówno tych związanych z wiekiem, jak i spowodowanych działaniem czynników środowiskowych. Potwierdzono, że hormony estrogenowe wywierają wpływ na prawidłowy wzrost włosów [3], pigmentację [4], unaczynienie, elastyczność i sprężystość oraz zdolność do zatrzymywania wody przez skórę [5, 6]. Udokumentowano korzystny udział estrogenów w procesie gojenia ran [7]. Estrogeny należą do grupy 18-węglowych steroidów syntetyzowanych z cholesterolu głównie w jajnikach kobiet przed okresem menopauzy, ale także w tkankach obwodowych (skórce, kościach, mózgu, tkance tłuszczowej) przy udziale enzymu aromatazy [8]. Ta pozagonadalna produkcja jest ważna klinicznie u kobiet otyłych, w okresie menopauzy i kobiet z chorobami jajników. Spośród trzech form estrogenów (estradiol, estron, estriol) największą aktywność biologiczną wykazuje produkowany w jajnikach estradiol, następnie produkowany w tkankach obwodowych estron, natomiast powstały w wyniku metabolizmu poprzednich związków estriol jest naj słabiej działającym hormonem estrogenowym [9]. Produkcja estrogenów jest kontrolowana przez dużą (podwzgórze) i małą [hormon folikulotropowy – *follicle-stimulating hormone* – FSH, hormon luteinizujący (LH) – uwalniane przez przysadkę] pętlę sprzężenia zwrotnego [10]. W okresie menopauzy spadek produkcji estradiolu przez jajniki powoduje wtórnie typowe zwiększenie stężenia FSH i LH w surowicy. Estrogeny wpływają na różne funkcje komórek (podziały, dojrzewanie, różnicowanie, obumieranie) na dwóch drogach:

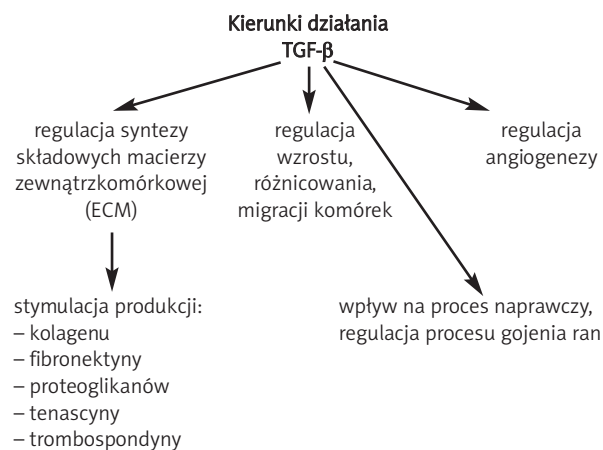
- klasycznej – poprzez wpływ na czynniki transkrypcyjne odpowiedzialne za ekspresję genów, po interakcji z receptorami wewnątrzkomórkowymi w jądrze oraz nieklasycznej,
- szybszej drodze – poprzez receptory błonowe lub niesteroidowe receptory dla hormonów, sprzężone z białkiem G (ang. *G protein coupled receptor* – GPR30).

Na tej drodze dochodzi do pobudzenia kinaz aktywowanych mitogenami (ang. *mitogen-activated protein* – MAP), które ostatecznie regulują transkrypcję specyficznych genów (ryc. 1). Wydaje się, że estrogeny mogą także wpływać na inne szlaki przekazywania sygnałów nieklasyczną drogą [11]. Zidentyfikowano dwie izoformy receptorów jądrowych dla estrogenów – ER- α i ER- β . Gen kodujący białko ER- β jest zlokalizowany na chromosomie 4, natomiast białko ER- β na chromosomie 6 [12]. Oba typy receptorów mogą łączyć się z estradiolem, ale także z dużą liczbą naturalnych i syntetycznych ligandów [13, 14]. Wykazano, że np. fitoestrogeny zamiennie łatwiej łączą się z receptorem ER- α niż ER- β [15]. W badaniach z użyciem metod PCR i immunohistochemicznych wykazano, że receptory ER- β są obecne u kobiet i mężczyzn w komórkach narządów rozrodczych, gruczołach sutkowych u kobiet oraz u obu płci w układzie ser-

cowo-naczyniowym, kościach i tkance mózgowej [16]. Receptory ER- β występują w tkankach rozrodczych u obu płci, wykazano także ich obecność w płucach, pęcherzu moczowym, nerkach, sercu, podwzgórzu, przysadce i skórze [17]. Na skórze twarzy ekspresja receptorów estrogenowych jest dużo większa w porównaniu ze skórą piersi i ud [18]. Używając specyficznych przeciwciał skierowanych przeciwko ER- α i ER- β , w metodzie immunohistochemicznej wykazano w obrębie owłosionej skóry głowy dominację ER- β [19]. Dużą liczbę receptorów ER- β stwierdzono w warstwie bazalnej, kolczystej, ziarnistej naskórka i brodawkowej skóry właściwej [17]. Niezależnie od nieco odmiennej dystrybucji receptorów estrogenowych, ze względu na ogromne podobieństwo budowy (60% homologii) mają one zdolność łączenia się z podobnymi ligandami. Przed ponad 20 laty zidentyfikowano białko błonowe, które wiąże estradiol [20]. Dalsze badania wykazały, że przeciwciała skierowane przeciwko wielu epitopom jądrowego receptora dla estrogenów ER- α znakują także wewnątrz błonowe białko w wielu typach komórek – komórkach raka sutka, śródbłonna, osteoblastach i komórkach neuronów [18]. Błonowe receptory dla estrogenów (ERs) są zlokalizowane w kaweolach (łac. *caveolae* – małe jaskinie) [18], specjalnych wpukleniach błony plazmatycznej bogatych w kaweolinę 1, białko, które zakotwiczone w błonie tworzy szczególny rodzaj rusztowania [18]. Metodą RT-PCR wykazano obecność mRNA dla białka receptorowego ER- α i ER- β w ludzkich fibroblastach [21], co sugeruje, że estradiol oddziałuje na skórę, bezpośrednio regulując funkcję fibroblastów.

Precyzyjny mechanizm indukcji produkcji kolagenu przez estrogeny nie jest znany. Wydaje się, że może on być związany – podobnie jak w przypadku działania czynników środowiskowych (UV, palenie) – z wpływem na poziom TGF- β – czynnika wzrostu promującego produkcję kolagenu przez fibroblasty [22]. Postuluje się, że niedobór estrogenów osłabia przekazywanie sygnału z TGF- β do jądra komórkowego poprzez bezpośredni wpływ na poziom czynnika wzrostu. Zahamowanie lub osłabienie sygnalizacji TGF- β powoduje spadek syntezy kolagenu, fibronektyny, proteoglikanów, tenascyny, trombospondyny i innych składowych macierzy zewnątrzkomórkowej (ang. *extracellular matrix* – ECM) (ryc. 2.). Liczne badania potwierdziły zmniejszenie liczby włókien kolagenowych w okresie pomenopauzalnym [23]. Wykazano, że u kobiet w okresie pomenopauzalnym obniżenie zawartości kolagenu w skórze ud sięga 2% na rok – przez pierwsze 15 lat po menopauzie [24] oraz że podanie hormonalnej terapii zastępczej spowodowało już po 6 mies. znamienne zwiększenie liczby włókien kolagenowych w tej okolicy [25].

Wyniki wielu badań potwierdzają korzystny wpływ egzogennych estrogenów na naskórek, zwiększając jego nawilżenie, zmniejszając przelną utratę wody, zwiększając stężenie lipidów powierzchniowych. Popra-



Ryc. 2. Kierunki działania TGF- β

wiają funkcje skóry jako bariery i zapobiegają suchości [6]. W 1940 r. po raz pierwszy Albright i wsp. [27] zwrócili uwagę, że kobiety w okresie klimakterium z osteoporozą mają zanikową, cienką skórę. Zauważono, że scieżnienie naskórka postępujące z wiekiem może zostać zatrzymane po doustnej terapii estrogenami. Kanda i wsp. [28] sugerują, że estrogeny działają na keratynocyty naskórka, hamując ich apoptozę. Autorzy uważają, że estrogeny oddziałują na keratynocyty po aktywacji receptorów błonowych, uruchamiając nieklasyczną drogę przenoszenia sygnałów. Korzystny wpływ HT na skórę udowodniono na podstawie wielu badań obejmujących duże grupy populacyjne. W dużym retrospektywnym badaniu NHANES (*National Health and Nutrition Examination Survey*) prowadzonym w Stanach Zjednoczonych, obejmującym 3825 kobiet, wykazano, że kobiety długo stosujące substytucję hormonalną miały 1/3 mniej zmarszczek w porównaniu z niestosującymi HT [29].

Wyniki wielu dalszych badań, w których dokonywano pomiaru zawartości kolagenu przy zastosowaniu różnych metod: immunohistochemicznej w biopsjach skórnych, pomiaru stężenia markerów kolagenu w płynie z pęcherzy tworzonych na badanym odcinku skóry (aminopropeptydu kolagenu I i III), pomiarach grubości skóry metodą USG, potwierdzają redukcję liczby włókien kolagenowych w okresie menopauzy (hipoestrogenizm). Te niekorzystne zmiany były odwracalne po zastosowaniu różnych postaci (doustna, przezskórna) suplementacji hormonalnej HT [17, 30, 31]. Jedynie pojedyncze doniesienia negują korzystne oddziaływanie HT na grubość skóry, syntezę kolagenu i elastyny [32]. Substytucyjna terapia hormonalna stosowana w leczeniu objawów towarzyszących menopauzie wywiera także ochronny wpływ na zachowanie funkcji poznawczych, zapobiega zaburzeniom snu, rozwojowi depresji, poprzez stabilizację stężenia lipidów i zwiększenie przepływu naczyniowych wpływa korzystnie na funkcje układu sercowo-naczyniowego [33]. Amerykańska grupa badawcza ds.

prewencji USPSTF (U. S. *Preventive Service Task Force*) na podstawie analizy wyników badań z różnych ośrodków podsumowała rekomendacje do HT [34]. Potwierdzone korzyści płynące z zastosowania tej terapii to poprawa gęstości mineralnej kości (silny dowód), zmniejszenie niebezpieczeństwa złamań (średni/silny dowód) i zmniejszenie ryzyka rozwoju raka jelita grubego (średni dowód). Zagrożenia tego rodzaju terapii wiążą się z niebezpieczeństwem rozwoju raka piersi (silny dowód), zatorów żylnych (silny dowód), choroby wieńcowej serca (silny/średni dowód), udaru (średni dowód), zapalenia pęcherzyka żółciowego (średni dowód) [33, 34]. Uznano za *silny dowód* taką sytuację, gdy obserwacje są oparte na wynikach prawidłowo przeprowadzonych wieloośrodkowych badań populacyjnych, które oceniają bezpośredni efekt działania HT na zdrowie badanych, *dowody o średniej mocy*, gdy siła dowodu jest ograniczona przez liczbę, jakość oraz zgodność poszczególnych badań lub też obserwowany efekt działania HT jest pośredni. Natomiast *dowód o słabej mocy* jest niewystarczający do wywołania wpływu na zdrowie badanych, ze względu na niewielką siłę, nieprawidłowe przeprowadzenie badania lub brak istotnych informacji o punktach końcowych badania [33]. Zdecydowana większość badań podkreśla protekcyjny wpływ HT względem zjawisk związanych ze starzeniem skóry, liczne badania dokumentują ich korzystny wpływ nie tylko na kolagen, ale na elastyczność skóry, funkcję niektórych przydatków skóry [18]. Niebezpieczeństwo związane ze stosowaniem HT, szczególnie w grupach kobiet, u których stwierdza się dodatkowe czynniki predysponujące do rozwoju schorzeń o potwierdzonym związku z taką terapią, nie pozwala jednak na rozszerzenie wskazań do stosowania HT w celu poprawy funkcji i wyglądu skóry [35]. Biorąc pod uwagę wyniki aktualnych badań, wielu autorów uważa, że HT powinna być prowadzona krótko w celu złagodzenia objawów menopauzy, nie rekomendując dłuższej niż 5-letniej kontynuacji substytucji, lecz pogląd ten ma także wielu przeciwników.

Stwierdzono, że 6-miesięczna terapia skóry twarzy maścią z 0,01-procentowym estradiolem i 0,3-procentowym estriolem daje podobny efekt kliniczny, jak HT stosowana doustnie [31]. W obu badanych grupach pacjentek (HT vs terapia miejscowa) wykazano wzrost nawilżenia skóry, poprawę elastyczności i zmniejszenie głębokości zmarszczek. Nie wykazano żadnych działań ubocznych w badaniach klinicznych i monitorując stężenia hormonów. Analizując obraz mikroskopowo-elektrowy wycinków skóry przed i po 6-miesięcznej miejscowej terapii walerianem estradiolu i acetanem cyploteronu, wykazano wzrost o 6,49% liczby włókien kolagenowych w regionie skóry po leczeniu [18]. Potwierdzono korzystny wpływ stosowanego przez 3 mies. miejscowo na skórę kremu z estradiolem, mierząc stężenie hydroksyprowliny w biopsjach skóry. Udowodniono także, oceniając poziom prekursorów kolagenu I i III, że

estrogeny aplikowane miejscowo zwiększają syntezę kolagenu [8].

Także inni badacze stosując miejscowo preparaty zawierające estrogeny, potwierdzają ich korzystny efekt zwiększający grubość skóry i wygładzający zmarszczki. Uważa się, że największy efekt ochronny w stosunku do procesów starzenia skóry występuje wówczas, gdy terapia estrogenowa jest włączona wcześniej, gdy stwierdza się jedynie niedobory estrogenów endogennych [36]. Co ciekawe, wykazano, że zmiany skórne będące wynikiem starzenia się skóry spowodowanego paleniem papierosów nie odpowiadają na terapię estrogenową [36].

Ze względu na wiele ograniczeń związanych ze stosowaniem HT, duże nadzieje związane są z nowymi możliwościami zastosowania preparatów pobudzających receptory estrogenowe w sposób selektywny. W zależności od rodzaju tkanki, na którą działają, związki te mogą wywierać efekty estrogenowe lub antyestrogenowe. Blokując niechciany efekt estrogenów na takie narządy, jak macica czy gruczoł piersiowy, niwelują ich niekorzystny efekt zwiększający ryzyko rozwoju raka u leczonych pacjentek. Idealny dla skóry modulator receptorów estrogenowych (SERM), powinien dodatkowo wywierać korzystny wpływ na mózg i kości. Ostatnio pod kątem wpływu na procesy starzenia skóry oceniany jest raloksyfen. Wykazano, że stymuluje on produkcję kolagenu przez fibroblasty ludzkie silniej niż estradiol i może odwracać niekorzystne zmiany w skórze występujące w okresie pomenopauzalnym [31].

Loewe opisał jako pierwszy w 1927 r. estrogenopodobne działanie niektórych roślin [37]. Najlepiej poznane fitoestrogeny występują w soi, czosnku, soczewicy, czerwonym winie, kiełkach warzyw strączkowych. Uważa się, że dieta bogata w fitoestrogeny, charakterystyczna dla krajów azjatyckich, powoduje, że u Azjatek rzadko występują objawy klimakteryczne. Aktywność biologiczna fitoestrogenów jest znamienne słabsza od estrogenów syntetycznych [25]. Fitoestrogeny są cząsteczkami pochodzenia roślinnego, strukturalnie podobnymi do estrogenów endogennych, mającymi zdolność przyłączania się do receptorów estrogenowych [31], przy czym ich powinowactwo do ER- β receptorów (obecnych w większej liczbie w skórze) jest znamienne większe niż do receptorów ER- α . Fitoestrogeny mogą także wykazywać cechy antagonistów receptorów estrogenowych. Wei i wsp. wykazali, że genisteina otrzymywana z soi może zapobiegać fotostarzeniu skóry [31], dodatkowo genisteina i daidzeina stymulują produkcję kwasu hialuronowego przez keratynocyty hodowlane [31]. Badanie europejskie obejmujące 234 kobiety w wieku pomenopauzalnym, które stosowały na skórę twarzy, rąk i górną część jednego ramienia 2 razy dziennie krem zawierający izoflawony w dwu stężeniach (Novadiol) przez 12 tyg., wykazało zmniejszenie suchości skóry i liczby zmarszczek po terapii [38].

Wyniki badań z zastosowaniem hodowli komórkowych, a zwłaszcza badań molekularnych pozwolity na lepsze poznanie wpływu i mechanizmu działania estrogenów na skórę, stworzyły także nowe kierunki poszukiwań bezpiecznych dróg ich zastosowania w prewencji starzenia skóry.

Piśmiennictwo

- Gilchrest BA, Yaar M. Aging and photoaging of the skin, observations at the cellular and molecular level. *Br J Dermatol* 1992; 127: 25-30.
- Ramos-e-Silva M, Carneiro SCS. Cosmetics for the elderly. *Clin Dermatol* 2001; 1: 413-423.
- Kossard S, Lee MS, Wilkinson B. Postmenopausal frontal fibrosing alopecia: a frontal variant of lichen planopilaris. *J Am Acad Dermatol* 1997; 36: 59-66.
- Beas F, Vargas L, Spada RP, Merchak N. Pseudoprecocious puberty in infants caused by dermal ointment containing estrogens. *J Pediatr* 1969; 75: 127-30.
- Haenggli W, Linder HR, Birkhaeuser MH, Schneider H. Microscopic findings of the nail-fold capillaries-dependence on menopausal status and hormone replacement therapy. *Maturitas* 1995; 22: 37-46.
- Piérard GE, Letawe C, Dowlati A, Piérard-Franchimont C. Effect of hormone replacement therapy for menopause on the mechanical properties of skin. *J Am Geriatr Soc* 1995; 43: 662-5.
- Ashcroft GS, Ashworth JJ. Potential role of estrogens in wound healing. *Am J Clin Dermatol* 2003; 4: 737-43.
- Nelson LR, Bulin SE. Estrogen production and action. *J Am Acad Dermatol* 2001; 45: 116-24.
- Carr BR. Disorders of the ovaries and female reproductive tract. *Williams textbook of endocrinology*. 9th ed. WB Saunders Philadelphia 1998, 751-817.
- Phillips TJ, Demircay Z, Sahu M. Hormonal effects on skin aging. *Clin Geriatr Med* 2001; 17: 662-8.
- Lorenzo J. A new hypothesis for how sex steroid hormones regulate bone mass. *J Clin Invest* 2003; 111: 1641-3.
- Enmark E, Peltö-Huikko M, Grandien K, et al. Human estrogen receptor beta-gene structure, chromosomal localization, and expression pattern. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 4258-65.
- Kuiper GG, Carlsson B, Grandien K, et al. Comparison of the ligand binding specificity and transcript tissue distribution of estrogen receptors α and β . *Endocrinology* 1997; 138: 863-70.
- De Angelis M, Stossi F, Waibel M, et al. Isoflavone phytoestrogens and their metabolites. *Bioorg Med Chem* 2005; 23: 6529-42.
- Harris DM, Besselink E, Henning SM, et al. Phytoestrogens induce differential estrogen receptors alpha- or beta-mediated responses in transfected breast cancer cells. *Exp Biol Med (Maywood)* 2005; 230: 558-68.
- Couse Jf, Lindzey J, Grandien K, et al. Tissue distribution and quantitative analysis of estrogen receptor- α (ER β) and estrogen receptor- α (ER β) messenger ribonucleic acid in the wild-type ER α -knockout mouse. *Endocrinol* 1997; 138: 4613-21.
- Thortontont MJ. The biological actions of estrogens on skin. *Exp Dermatol* 2001; 11: 487-502.
- Verdier-Sévrain S, Bonté F, Gilchrest B. Biology of estrogens in skin: implications for skin aging. *Exp Dermatol* 2006; 15: 83-94.
- Thornton MJ, Taylor Ah, Mulligan K, et al. Estrogen receptor beta is a predominant estrogen receptor in human scalp skin. *Exp Dermatol* 2003; 12: 181-90.
- Pietras R, Szego CM. Partial purification and characterization of estrogen receptors in subfractions of hepatocyte plasma membranes. *Biochem J* 1980; 191: 743-60.
- Haczynski J, Tarkowski R, Jarzabek K, et al. Human cultured skin fibroblasts Express estrogen receptor alpha and beta. *Int J Mol Med* 2002; 10: 149-53.
- Chau D, Mancoll JS, Lee S, et al. Tamoxifen downregulates TGF-beta production in keloid fibroblasts. *Ann Plast Surg* 1998; 40: 490-3.
- Affinito P, Palomba S, Sorrentino C, et al. Effects of postmenopausal hypoestrogenism on skin collagen. *Maturitas* 1999; 33: 239-47.
- Brincat M, Versi E, Moniz CF, et al. Skin collagen changes in postmenopausal women receiving different regimens of estrogen therapy. *Obstet Gynecol* 1987; 70: 123-7.
- Sator PG, Schmidt JB, Rabe T, Zouboulis CC. Skin aging and sex hormones in women – clinical perspectives for intervention by hormone replacement therapy. *Exp Dermatol* 2004; 13: 36-40.
- Hall G, Philips TJ. Estrogen and skin: the effects of estrogen, menopause, and hormone replacement therapy on the skin. *J Am Acad Dermatol* 2005; 53: 555-68.
- Albright F, Smith PH, Richardson A. Postmenopausal osteoporosis – its clinical features. *JAMA* 1941; 116: 2465-74.
- Kanda N, Watanabe S. 17beta-estradiol stimulates the growth of humane keratinocytes by inducing cyclin D2 expression. *J Invest Dermatol* 2004; 123: 319-28.
- Dunn LB, Damesyn M, Moore AA, et al. Does estrogen prevent skin aging? Results from the first national health and nutrition examination survey (NHANES I). *Arch Dermatol* 1997; 133: 339-42.
- Maheux R, Naud F, Rioux M, et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled study on the effect of conjugated estrogens on skin thickness. *Am J Obstet Gynecol* 1994; 170: 642-9.
- Verdier-Sévrain S. Effect of estrogens on skin aging and the potential role of selective estrogen receptor modulators. *Climacteric* 2007; 10: 289-97.
- Oikarinen A. Systemic estrogens have no conclusive beneficial effect on human skin connective tissue. *Acta Obstet Gynaecol Scand* 2000; 79: 250-4.
- Sharma S. Hormone replacement therapy in menopause: current concerns and considerations. *Kathmandu Univ Med J (KUMJ)* 2003; 1: 288-93.
- U. S. Preventive Service Task Force. Postmenopausal hormone replacement therapy for primary prevention of chronic conditions: recommendation and rationale. *Ann Intern Med* 2002; 137: 834-9.
- Raine-Fenning NJ, Brincat MP, Muscat-Baron Y. Skin aging and menopause. *Am J Clin Dermatol* 2003; 4: 371-8.
- Brincat MP, Baron YM, Galea R. Estrogens and the skin. *Climacteric* 2005; 8: 110-23.
- Loewe S, Lange F, Spor E. Über weibliche Sexual-hormone. *Biochem Zt* 1927; 180: 1-26.
- Bayerl C, Keil D. Isoflavonoide in der Behandlung der Hautalterung postmenopausaler Frauen. *Akt Dermatol* 2002; 28: 14-8.