médecine/sciences 1997 ; 13 : 830-7

Stéroïdes ovariens et système vasculaire : rôle dans la prolifération vasculaire et implication en pathologie veineuse

Martine Perrot-Applanat

Les stéroïdes ovariens sont actifs sur le système vasculaire et jouent ainsi un rôle physiopathologique essentiel dans plusieurs phénomènes : contrôle de la vasculogenèse au cours du cycle menstruel et de la grossesse ; inhibition de la prolifération des cellules musculaires lisses de la paroi artérielle en dehors du tractus génital, expliquant probablement l'effet protecteur des œstrogènes sur le développement de l'athérosclérose ; participation aux mécanismes de l'insuffisance veineuse et, enfin, modification de l'hémostase. Le risque thrombo-embolique lié à la contraception orale par les œstro-progestatifs est globalement faible, mais est aggravé par plusieurs facteurs de risque associés : facteur V Leiden, tabagisme, varices…, etc.

Les hormones stéroïdes de l'ovaire, œstrogènes et progestérone, sont impliquées dans la physiologie et la physiopathologie circulatoire, au niveau de différents territoires vasculaires. Leurs effets vasculaires s'exercent à deux niveaux différents : modulation de l'hémostase et interaction avec la paroi vasculaire. L'effet direct des stéroïdes ovariens s'exerce principalement par l'intermédiaire de récepteurs spécifiques présents dans les cellules vasculaires pariétales, artérielles et veineuses. La paroi vasculaire apparaît comme un véritable organe cible des œstrogènes, et dans certains cas, de la progestérone.

L'analyse des travaux consacrés aux effets des œstrogènes et de la progestérone sur l'appareil circulatoire met en avant des modifications de la réactivité vasculaire (vasomotricité) et des changements structuraux des vaisseaux sanguins qui participent au modelage vasculaire, que celui-ci soit de nature physiologique ou physiopathologique. Ces hormones peuvent ainsi être impliquées dans la prolifération des cellules musculaires lisses vasculaires, principal effecteur du remodelage fonctionnel et structural des vaisseaux ; elles peuvent également, dans certains cas, être impliquées dans la prolifération des cellules endothéliales et participer au processus d'angiogenèse. Les effets

ADRESSE

M. Perrot-Applanat : *directeur de recherche au Cnrs.* Inserm U. 460, remodelage vasculaire, CHU Xavier-Bichat, 16, rue Henri-Huchart, 75018 Paris, France.

TIRÉS À PART

M. Perrot-Applanat.

des œstrogènes sur la réactivité vasculaire ont précédemment fait l'objet de revues ([1] et *mini-synthèse, p. 881 de ce numéro*).

Dans un premier temps, nous ferons le point des connaissances sur l'implication des hormones ovariennes dans la prolifération vasculaire. Nous envisagerons dans un deuxième temps l'implication des stéroïdes ovariens en physiologie et en physiopathologie veineuse.

Œstrogènes, progestérone et prolifération vasculaire

D'une façon générale, l'œstradiol (17β-œstradiol) et les progestatifs peuvent être impliqués dans la prolifération cellulaire et l'augmentation de synthèse protéique. L'action proliférative des œstrogènes sur le tractus génital et la glande mammaire, *in vivo* et *in vitro*, est la mieux établie. L'œstradiol stimule, en particulier, la croissance des cellules épithéliales mammaires et utérines selon un effet dépendant de la dose. Cette action proliférative est relayée par la synthèse de facteurs de croissance (EGF : *epithelial growth factor*, IGF : *insulin-like growth factor*, PDGF : *platelet derived growth factor* ...) qui agissent de manière autocrine ou paracrine. A l'inverse, de façon plus rare, l'addition d'œstradiol peut inhiber la croissance cellulaire (cellules de neuroblastome, par exemple). La progestérone module l'activité proliférative de l'œstradiol dans le sein et l'endomètre, et elle est essentielle pour l'implantation du blastocyste et le maintien de la gestation. Ces hormones stéroïdes agissent en « activant » un récepteur nucléaire ce qui implique un changement de conformation du récepteur et une augmentation d'affinité des complexes hormones-récepteurs pour des séquences spécifiques de l'ADN, les HRE *(hormone responsive elements)*; les complexes hormones-récepteurs stimulent la transcription de certains gènes dépendants des hormones.

Les données relatives aux effets de l'œstradiol et de la progestérone sur la prolifération des cellules vasculaires (cellules musculaires lisses et cellules endothéliales) sont encore très peu nombreuses; nous tenterons de les analyser dans cet article en distinguant, d'une part, les organes de la reproduction, et d'autre part, le système vasculaire en général.

Stimulation de la vasculogenèse physiologique dans le tractus génital

Les hormones stéroïdes de l'ovaire, œstradiol et progestérone contrôlent la prolifération et la différenciation endométriale au cours du cycle menstruel et préparent le tissu pour l'implantation et le développement de l'embryon. La croissance rapide de l'endomètre pour préparer l'implantation nécessite un modelage vasculaire dynamique. Les hormones ovariennes sont également responsables des modifications vasculaires observées pendant le cyle menstruel et la grossesse, qu'il s'agisse de modifications morphologiques des artères utérines et des artérioles au sein du tissu-cible, ou de variations du débit sanguin utérin.

Au cours de la grossesse, les artères utérines augmentent de taille sous l'influence de l'œstradiol et de la progestérone pour s'adapter à la croissance du fœtus. Ces deux hormones exercent un effet vasodilatateur sur l'artère utérine, l'effet étant maximum en phase lutéale. Elles interviennent également dans la croissance de ce tissu, en impliquant un processus de prolifération des cellules musculaires lisses. Les récepteurs des stéroïdes ovariens, présents dans ces artères [2], interviennent probablement dans ces processus, mais les mécanismes en jeu ne sont pas connus.

Au sein de l'utérus, la sensibilité des artères/artérioles aux stéroïdes ovariens est hétérogène et reflète la complexité de la vascularisation utérine *(figure 1)* [3]. Dans l'endomètre basal, la morphologie des artérioles basales issues des artères radiées du myomètre ne se modifie pas au cours du cycle menstruel. Seules les artères spiralées de l'endomètre subissent de nombreuses modifications sous l'action des hormones : peu abondantes en phase folliculaire (imprégnation œstrogénique), elles se développent de façon importante pendant la phase sécrétoire (imprégnation œstro-progestative) ; l'arrêt de la sécrétion de progestérone à la

RÉFÉRENCES

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

2. Lanta M, Karkkainen J, Lehtovirta P. Progesterone and estradiol receptors in the cytosol of the human uterine artery. *Am J Obstet Gyn* 1983; 147: 627-33.

3. Ferenczy A. Anatomy and histology of the uterine corpus. In: Kurman RJ, ed. *Blaustein' pathology of the female genital tract*. Francfort: Springer Verlag, 1987; 272.

4. Perrot-Applanat M, Groyer-Picard MT, Garcia E, Lorenzo F, Milgrom E. Immunocytochemical demonstration of estrogen and progesterone receptors in muscle cells of uterine arteries in rabbits and humans. *Endocrinology* 1988; 123: 1511-9.

5. Perrot-Applanat M, Deng M, Fernandez H, Lelaidier C, Meduri G, Bouchard P. Immunohistochemical localization of estradiol and progesterone in human uterus throughout pregnancy: expression in endometrial blood vessels. *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 78: 216-24.

6. Folkman J, Shing Y. Angiogenesis. *J Biol Chem* 1992; 267: 10931-4.

7. Leung D, Cachianes G, Kuang W, Goeddel W, Ferrara N. Vascular endothelial growth factor is a secreted angiogenic mitogen. *Science* 1989; 246: 1306-12.

8. Kamat BR, Brown LF, Manseau EJ, Senger DR, Dvorak HF. Expression of VEGF by human granulosa and theca lutein cells, role in corpus luteum development. *Am J Pathol* 1995; 146: 157-65.

9. Shweiki D, Itin A, Neufeld G, Gitay-Goren H, Keshet E. Patterns of expression of VEGF and VEGF receptors in mice suggest a role in hormonally regulated angiogenesis. *J Clin Invest* 1993; 91: 2235-43.

10. Chakraborty I, Das SK, Dey SK. Differential expression of VEGF and its receptors mRNAs in the mouse uterus around the time of implantation. *J Endocrinol* 1995; 147: 339-52.

11. Shifren JL, Tseng JF, Zaloudek CJ, Ryan IP, Meng YG, Ferrara N, Jaffe RB, Taylor RN. Ovarian steroid regulation of vascular endothelial growth factor in the human endometrium: implications for angiogenesis during the menstrual cycle and in the pathogenesis of endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 3112-8.

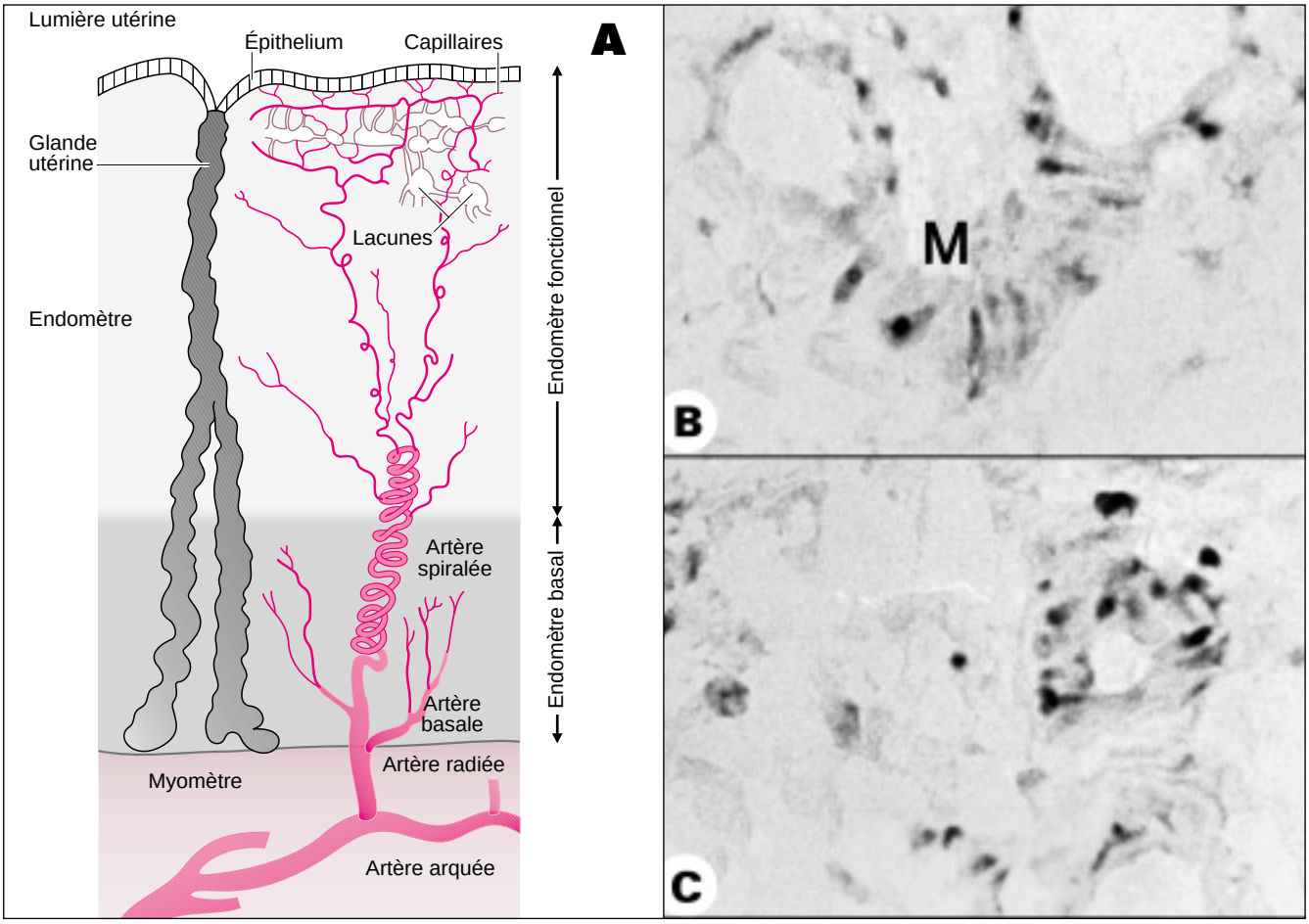

Figure 1. ***Endomètre : vascularisation (d'après Ferenczy [3]) et présence de récepteur dans les artérioles spiralées.*** ***A.*** *Vascularisation. À la jonction de l'endomètre et du myomètre, les portions terminales (dénommées artères basales) des artères radiées donnent naissance à deux types d'artérioles : (1) des branches collatérales courtes (artérioles basales) se ramifiant en un réseau de capillaires, responsables de la vascularisation de la couche basale de l'endomètre ; leur structure est de type musculaire et pourvue d'un réseau élastique bien structuré ; (2) une branche tortueuse et longue (artère spiralée), qui se dirige vers la couche superficielle de l'endomètre (endomètre fonctionnel). Ces artérioles spiralées sont dépourvues de charpente élastique et sont constituées par une couche de cellules endothéliales entourées par une ou plusieurs couches concentriques de cellules musculaires en forme de croissant.* ***B-C.*** *Présence de récepteur des œstrogènes* ***(A)*** *et de la progestérone* ***(B)*** *dans les artères spiralées de l'endomètre en phase lutéale ; M : média. Coupe de biopsie d'endomètre congelée et fixée dans le mélange paraformaldéhyde-acide picrique (PAF). Détection effectuée par immunoperoxydase indirecte à l'aide d'anticorps monoclonaux anti-RE et anti-RP (LI 417) [4].* x *400.*

fin du cycle menstruel provoque leur vasoconstriction conduisant à l'ischémie du tissu, et à l'activation de certaines métalloprotéases ; c'est l'ensemble de ces processus, encore très mal compris à l'heure actuelle, qui est à l'origine de la menstruation. Nous avons montré en 1988 la présence des récepteurs des œstrogènes et de la progestérone dans les cellules musculaires lisses (média) des artères utérines de l'endomètre et du myomètre *(figure 1)* [4, 5]. Chez la femme, ces récepteurs sont présents dans les artères spiralées de l'endomètre fonctionnel, c'est-à-dire en phase lutéale et pendant la gestation. La régulation de la concentration des récepteurs artériels dans l'endomètre a été étudiée chez la lapine et elle dépend de l'état hormonal [4] ; l'administration d'œstradiol à dose modérée augmente leurs concentrations, mais l'obtention d'une induction maximale du récepteur de la progestérone dans les artères utérines nécessite des doses d'œstradiol plus importantes que pour les autres types cellulaires (épithélial et stromal) de l'endomètre. Le développement des artères spiralées en phase lutéale et l'épaississement de leur paroi et de celle des artères utérines pendant la gestation sont probablement réglés en grande partie par les stéroïdes, selon des mécanismes encore mal connus. Quels sont les rôles respectifs des œstrogènes et de la progestérone dans ces processus ? S'agit-il d'un effet direct sur les cellules vasculaires, ou à défaut, d'un effet indirect de l'hormone passant par des cellules de l'endomètre (effet paracrine) ?

Stéroïdes ovariens et prolifération des cellules endothéliales

Dans l'organisme adulte, la vitesse de renouvellement des cellules endothéliales est très faible et l'angiogenèse est généralement un processus très lent. Le système génital femelle constitue une exception, car le développement d'une vascularisation supplémentaire est constamment imposé par l'évolution cyclique de structures transitoires et la réparation cyclique des structures endommagées. Ainsi, l'angiogenèse programmée concerne la néovascularisation des follicules ovariens et du corps jaune, l'angiogenèse au niveau des sites d'implantation dans l'endomètre, et le développement des capillaires endommagés de l'endomètre à la fin du cycle. Quelle est la relation entre l'angiogenèse, dont la dépendance vis-à-vis de facteurs de croissance est largement démontrée (FGF : *fibroblast growth factor*; VEGF : *vascular endothelium growth factor*; angiogénine ; HGF : *hepatocyte growth factor*; IL1 : interleukine 1 ; PD-ECGF : *platelet-derived endothelial cell growth factor*) [6], et l'environnement hormonal dans certains tissus ? Les études relatives à ce sujet ne font que commencer.

Les stéroïdes ovariens modulent l'expression des facteurs de croissance FGF acide ou FGF basique dans l'endomètre qui stimulent la croissance des cellules vasculaires *in vitro* et l'angiogenèse *in vivo*, mais leur rôle dans la vascularisation de l'endomètre n'est pas clairement établi.

Le VEGF (également appelé vasculotropine ou facteur de perméabilité vasculaire, VPF) est un facteur angiogénique [7] qui stimule spécifiquement la prolifération des cellules endothéliales *in vivo* et *in vitro* et augmente la perméabilité vasculaire environ 1 000 fois plus que l'histamine. Son action passe par l'intermédiaire de récepteurs spécifiques de type tyrosine-kinase. Récemment, la présence de ce facteur a été décrite dans différents tissus soumis à l'action des stéroïdes ovariens (ovaire, utérus, placenta), l'expression de ce facteur étant souvent reliée au fonctionnement cyclique de ces tissus. Dans l'ovaire, l'expression de VEGF semble liée à la fois à l'augmentation de la perméabilité capillaire des vaisseaux de la thèque dans la première partie du cycle et à la vascularisation du corps jaune après l'ovulation, le mécanisme précis de la régulation n'étant pas encore élucidé [8]. L'ARN messager de VEGF est exprimé dans l'endomètre ainsi que dans le myomètre humain. Dans l'endomètre, les variations de la concentration de ce facteur au cours du cycle ou au moment de l'implantation de l'embryon [9, 10] suggèrent une régulation hormonale. La régulation par les œstrogènes et la progestérone dans les cellules endométriales humaines en culture vient d'être récemment confirmée [11, 12], selon un mécanisme non encore élucidé. Au cours de la grossesse, VEGF est également présent dans le placenta et les membranes fœtales où son expression semble permettre l'accroissement de perméabilité capillaire nécessaire aux échanges entre la mère et le fœtus [13].

L'implication des stéroïdes ovariens *in vivo* dans la prolifération des cellules endothéliales n'a pas été rapportée dans d'autres territoires vasculaires. Cependant, l'œstradiol exerce un effet direct sur l'angiogenèse de cellules endothéliales en culture primaire issues du cordon ombilical, en favorisant l'attachement cellulaire, la migration, la prolifération et la différenciation [14]. Plusieurs manifestations pathologiques vasculaires associées à une prolifération endothéliale, au cours du lupus systémique érythémateux, par exemple [15], suggèrent également que l'activité des cellules endothéliales, et l'angiogenèse en particulier, pourrait être modulée par les hormones stéroïdes sexuelles. A l'inverse, d'autres stéroïdes, tels que le 2-méthoxyœstradiol (métabolite endogène de l'œstradiol) utilisé *in vitro* [16] ou l'acétate de médroxyprogestérone utilisé *in vivo* et *in vitro* peuvent être de puissants inhibiteurs de l'angiogenèse.

Inhibition œstrogénique de la prolifération des cellules musculaires lisses dans d'autres territoires vasculaires*

Les cellules musculaires lisses sont présentes au sein de la paroi arté-

* *Voir aussi* la mini-synthèse *de J.F. Arnal* et al., page 881 de ce numéro.

RÉFÉRENCES

12. Zhang L, Rees MCP, Bicknell R. The isolation and long term culture of normal human endometrial epithelium and stroma. Expression of mRNAs for angiogenic polypeptides basally and on estrogen and progesterone challenges. *J Cell Sci* 1995 ; 108 : 323-31.

13. Cheung CY, Singh M, Ebaugh MJ, Brace RA. VEGF gene expression in ovine placenta and fetal membranes. *Am J Obstet Gynecol* 1995 ; 173 : 753-9.

14. Morales D, McGowan K, Grant D, Maheshwari S, Bhartiya D, Cid M, Kleinman H, Schanper W. Estrogen promotes angiogenic activity in human umbilical vein endothelial cells *in vitro* and in a murine model. *Circulation* 1995 ; 91 : 755-63.

15. Grossman C. Possible underlying mechanisms of sexual dimorphism in the immune response: fact and hypothesis. *J Steroid Biochem* 1989 ; 34 : 241-51.

16. Fotsis T, Zhang Y, Pepper MS, Adelcreutz H, Montesano R, Nawroth PP, Schweigerer L. The endogenous estrogen metabolite 2-methoxyestradiol inhibits angiogenesis and suppresses tumour growth. *Nature* 1994 ; 368 : 237-9.

17. Foegh ML, Zhao Y, Ramwell PW. Estradiol inhibition of vascular myointimal proliferation following immune and mechanical injury. In : Bock G, Cionde JA, eds. *Non-reproductive actions of sex steroids. Ciba Foundation Symposium.* Chichester, England : John Wiley and Sons, 1991 ; 191 : 139-49.

18. Constantinides P, Gutman-Auersperg N, Hospes D, Williams K. Estradiol and prednisolone in rabbit atherosclerosis. *Arch Pathol* 1962 ; 73 : 277-80.

19. Renaud S. Thrombosis and atherosclerosis prevention by estrogens in hyperlipemic rats. *Atherosclerosis* 1970 ; 12 : 467-73.

20. Clarkson TB, Shively CA, Morgan TM, Koritnik DR, Adams MR, Kaplan JR. Oral contraceptives and coronary artery atherosclerosis of Cynomolgus monkeys. *Obstet Gynecol* 1990 ; 75 : 217-22.

21. Sullivan TR, Karas RH, Aronovitz M, Faller GT, Ziar JP, Smith JJ, O'Donnell TF, Mendelsohn ME. Estrogen inhibits the response to injury in a mouse carotid artery model. *J Clin Invest* 1995 ; 96 : 2482-8.

22.Vargas R, Wroblewsk B, Rego A, Hatch J, Ramwell PW. Estradiol inhibits smooth muscle cell proliferation of pig coronary artery. *Br J Pharmacol* 1993 ; 109 : 612-7.

rielle sous deux phénotypes : une forme contractile et une forme sécrétante dont les activités cellulaires et l'ultrastructure sont différentes. Dans l'athérosclérose, comme dans d'autres affections vasculaires, les processus de remodelage touchant la paroi vasculaire peuvent impliquer une composante de prolifération qui inclut la migration et la prolifération des cellules musculaires lisses (épaississement d'une « myointima » et de la média). Des facteurs mécaniques (étirement-pression) et neurohormonaux (molécules vasoconstrictrices, telles que l'angiotensine ou l'endothéline) peuvent, indépendamment, stimuler l'hypertrophie et/ou l'hyperplasie des cellules musculaires lisses. Ces effets passent le plus souvent par l'activation de la synthèse de protooncogènes et de facteurs de croissance autocrines (PDGF, FGFb ou TGFβ).

L'analyse du rôle protecteur des œstrogènes dans l'athérosclérose présente un grand intérêt si l'on considère le grand nombre de femmes jeunes prenant des contraceptifs et de femmes ménopausées prenant des œstrogènes (traitement substitutif de la ménopause). Cet effet protecteur des œstrogènes, chez l'animal et dans l'espèce humaine, s'exerce par des mécanismes impliquant non seulement une modification du profil lipidique mais également une diminution de l'épaisseur et de la prolifération intimale ; les études *in vivo* rapportant ces observations sont nombreuses [17-21]. *In vitro,* l'œstradiol inhibe la prolifération des cellules vasculaires lisses de fragments d'artère coronaire de porc [22], ainsi que la prolifération des cellules musculaires lisses aortiques isolées et cultivées en présence d'un sérum hyperlipémique [23] ou du facteur de croissance PDGF [24].

Les mécanismes de l'effet antiprolifératif de l'œstradiol dans le tissu vasculaire ne sont pas encore élucidés. A nouveau il conviendra de différencier les signaux dans la cellule cible de ceux impliqués dans les communications intercellulaires, comme dans le cas de la régulation de la vasomotricité : stimulation de la sécrétion par l'endothélium de facteurs antiprolifératifs, ou effet direct de l'œstradiol sur la cellule musculaire lisse vasculaire ?

Des récepteurs des œstrogènes ont été identifiés *in situ* et *in vitro* dans de nombreux territoires vasculaires (artères coronaires et mammaires, aorte, carotides et myocarde) [25-27], le plus souvent au niveau des cellules musculaires lisses (média), plus rarement dans les cellules endothéliales où leur présence est essentiellement détectée *in vitro* [5, 25, 26, 28, 29]. Leur concentration est beaucoup plus faible que dans d'autres types cellulaires (tractus génital, glande mammaire, hypophyse) ; de façon inattendue, elle ne semble pas varier selon le sexe et leur induction sous l'effet des œstrogènes (comme c'est le cas dans un tissu cible classique) n'a pas été clairement établie. Les études *in vitro* mettent en évidence que ces récepteurs sont fonctionnels, suggérant que l'effet œstrogénique inhibiteur sur la prolifération, ainsi que ses effets sur la vasomotricité et la synthèse de matrice extracellulaire, seraient relayés par l'activation de son récepteur spécifique [29-31]. Cependant, les mécanismes précis de l'inhibition de la prolifération des cellules vasculaires dépendante des œstrogènes n'ont pas été décrits à ce jour. Des études futures devront préciser les rôles respectifs de l'endothélium et des cellules musculaires, la nature précise des cibles intra-cellulaires activées par la liaison de l'œstradiol à son récepteur et impliquées dans la prolifération vasculaire : production de monoxyde d'azote [32] et de prostacyclines (?), modification de concentration intracellulaire d'un facteur impliqué dans l'activation d'une voie commune à différents facteurs mitogènes, tels certaines oncoprotéines agissant directement au niveau nucléaire ? Seule l'augmentation de l'expression du protooncogène c-*Fos* a été rapportée à ce jour dans les cellules musculaires lisses de l'aorte dès 30 minutes après l'ajout d'œstradiol [33], ce qui confirme son action directe sur cet effet (présence d'un élément de réponse aux œstrogènes dans le promoteur de c-*Fos*). Compte tenu de la multiplicité des stimulus et des facteurs impliqués dans la division des cellules musculaires lisses, l'œstradiol agit vraissemblablement sur plusieurs cibles pour être efficace dans son effet inhibiteur de la prolifération cellulaire.

RÉFÉRENCES

23. Fisher-Dzoga K, Wilser RW, Vesseling D. The effect of estradiol on the proliferation of rabbit medial tissue culture cells induced by hyperlipemic serum. *Exp Mol Pathol* 1983 ; 39 : 355-63.

24. Yang Z. Estrogen and proliferation of vascular smooth muscle cells. *30th Annual Scientific Meeting of the European Society for Clinical Investigation.* Interlaken, April 24-27, 1996.

25. McGill HC Jr, Sheridan PJ. Nuclear uptake of sex steroid hormones in the cardiovascular system of the baboon. *Circ Res* 1981 ; 48 : 238-44.

26. Horwitz KB, Horwitz LD. Canine vascular tissues are targets for androgens, estrogens, progestins and glucocorticoids. *J Clin Invest* 1982 ; 69 : 750-8.

27. Perrot-Applanat M. Estrogen receptors in the cardiovascular system. *Steroids* 1996 ; 61 : 212-5.

28. Colburn P, Buonassisi V. Estrogen-binding sites in endothelial cell cultures. *Science* 1978 ; 201 : 817-9.

29. Bayard F, Clamens S, Delsol G, Blaes N, Maret A, Faye JC. Estrogen synthesis, estrogen metabolism and functional receptors in bovine aortic endothelial cells. In : Bock G, Cionde JA, eds. *Non-reproductive actions of sex* steroids. *Ciba Foundation Symposium.* Chichester, England : John Wiley and Sons, 1991 ; 191 : 122-33.

30. Bayard F, Clamens S, Meggetto F, Blaes N, Delsol G, Faye JC. Estrogen synthesis, estrogen metabolism and functional receptors in rat arterial smooth muscle cells in culture. *Endocrinology* 1995 ; 136 : 1523-9.

31. Karas RH, Patterson BL, Mendelsohn ME. Human vascular smooth muscle cells contain functional estrogen receptor. *Circulation* 1994 ; 89 : 1943-50.

32. Arnal JF, Clamens F, Pechet C, Nègre-Salvayre A, Allera C, Girolami JP, Salvayre R, Bayard F. Ethinylestradiol does not enhance the expression of nitric oxide synthase in bovine aortic endothelial cells but increase the release of bioactive nitric oxide by inhibiting superoxide anion production. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996 ; 93 : 4108-13.

33. Orimo A, Inoue S, Ikegami A, Hosoi T, Akishita M, Ouchi Y, Miramatsu M, Orimo H. Vascular smooth muscle cells as target for estrogens. *Biochem Biophys Res Commun* 1993 ; 195 : 730-6.

Effet des progestatifs en pathologie cardiovasculaire

L'étude de l'effet des progestatifs sur l'athérosclérose a mis en lumière des résultats contradictoires : l'étude de la réactivité vasculaire des artères coronaires athéromateuses de la guenon ovariectomisée montre que l'ajout de progestatifs (acétate de médroxyprogestérone) à des œstrogènes (œstrogènes conjugués) diminue la vasodilatation dépendante de l'endothélium [34] ; à l'inverse, sur le même modèle expérimental, l'association de progestérone aux œstrogènes ne diminue pas l'effet protecteur de l'œstrogène sur l'athérosclérose des artères coronaires [35]. Selon une étude épidémiologique récente [36], la prévention des événements cardiovasculaires par l'apport d'œstrogènes chez la femme n'est pas modifiée par l'ajout de progestatifs. Les études futures devront prendre en considération le choix du progestatif et son association ou non à des œstrogènes.

Stéroïdes ovariens et système veineux

Paroi veineuse

Au sein du système vasculaire, le système veineux (qui représente 70 % du volume sanguin total), constitue une réserve de sang mobilisable et présente certaines caractéristiques essentielles. Dans un contexte de basse pression intravasculaire et de distensibilité importante de la paroi veineuse, le rôle de la contraction musculaire lisse est prédominant pour assurer un maintien du volume veineux. Par ailleurs, le système veineux est l'objet de variations majeures (pression, volume, débit) liées à l'orthostatisme.

Bien qu'ayant une origine embryologique commune avec l'artère, la veine présente une paroi plus mince, une média moins riche en fibres musculaires lisses, plus dense en collagène (type I et III), et un tissu élastique (en particulier les lames limitantes d'élastine) plus discret. L'innervation veineuse, responsable du tonus et de la trophicité pariétale, est essentiellement adrénergique et communique de l'adventice (terminaisons sympathiques) vers la média, libérant ainsi les neuromédiateurs à proximité des cellules musculaires lisses.

La sensibilité des veines aux hormones sexuelles est généralement considérée comme bien établie, en raison des multiples manifestations pathologiques de nature congestive engendrées par l'hormonothérapie sexuelle (contraception hormonale en particulier) ; de même, l'augmentation des syndromes congestifs en phase lutéale fait penser que le fonctionnement veineux est sous la dépendance d'une régulation hormonale. Les manifestations veineuses de la grossesse représentent pour leur part une condition mixte dans laquelle un effet mécanique (compression induite par le fœtus) vient surajouter ses effets à l'inondation stéroïdienne [37]. Les stéroïdes ovariens modifient incontestablement la vasomotricité veineuse, mais leurs effets veineux ont été moins bien analysés que leurs effets artériels. Des récepteurs de la progestérone ont clairement été mis en évidence *in vivo* dans la paroi veineuse, en particulier dans les veines saphènes au niveau des cellules musculaires lisses (média) *(figure 2)* [38, 39]. Il est à noter que leur concentration est faible et ne semble pas varier selon le sexe. L'existence de récepteurs œstrogéniques est moins bien établie que pour les récepteurs de la progestérone [38, 39], ce qui suggère que la progestérone pourrait jouer un rôle fondamental dans le système veineux, en particulier en favorisant la stase veineuse. *In vitro,* les récepteurs de l'œstradiol sont présents dans les cellules musculaires lisses de veines saphènes et dans les cellules endothéliales de veine ombilicale [14, 31]. L'œstradiol augmente l'attachement de cellules endothéliales, issues de veine ombilicale (HUVEC, *human umbilical vein endothelial cells*), à des protéines de la matrice extracellulaire (en particulier la laminine et la fibronectine) à travers une augmentation de la synthèse d'intégrines ; il augmente également l'adhérence de leucocytes aux cellules endothéliales HUVEC stimulées par le TNF, suggérant ainsi une participation de l'œstradiol dans les interactions cellule-cellule et cellule-matrice extracellulaire.

Les stéroïdes ovariens participent-ils à la genèse de l'insuffisance veineuse ou à son évolution ? L'insuffisance veineuse, de la jambe lourde aux formes

RÉFÉRENCES

34. Adams M, Kaplan JR, Manuck SB, Koritnik DR, Parks JS, Wolfe MS, Clarkson TB. Inhibition of coronary artery atherosclerosis by 17-beta estradiol in ovariectomized monkeys. *Arterosclerosis* 1990 ; 10 : 1051-7.

35. Williams JK, Honoré EK, Washburn SA, Clarkson TB. Effects of hormone replacement therapy on reactivity of atherosclerotic coronary arteries in Cynomolgus monkeys. *J Am Coll Cardiol* 1994 ; 24 : 1757-61.

36. Grodstein F, Stamper MJ, Manson JF, Colditz GA, Willett WC, Rosner B, Speizer FE, Hennekens CH. Postmenopausal estrogen and progestin use and the risk of cardiovascular disease. *N Engl J Med* 1996 ; 335 : 453-61.

37. Belaisch J. Paroi veineuse et hormones sexuelles. *Rev Fr Gynecol Obstet* 1991 ; 86 : 175-80.

38. Perrot-Applanat M, Cohen-Solal K, Milgrom E, Finet M. Progesterone receptor expression in human saphenous veins. *Circulation* 1995 ; 92 : 2975-83.

39. Schmidt JB, Seidi K, Spona J. Hormonell interaktionen bei varikosis-receptor analyse und hormonserumspiegel. *Vasa* 1986 ; 15 : 224-7.

40. Michiels C, Arnould T, Remacle J. Rôle clé de l'hypoxie et des cellules endothéliales dans le développement des veines variqueuses. *Med Sci* 1994 ; 10 : 845-53.

41. World health organization collaborative study of cardiovascular disease and steroid hormone contraception. Venous thromboembolic disease and combined oral contraceptives : results of international multicentre case-control study. *Lancet* 1996 ; 346 : 1575-82.

42. World health organization collaborative study of cardiovascular disease and steroid hormone contraception. Effect of different progestagens in low estrogen oral contraceptives on venous thromboembolism disease. *Lancet* 1996 ; 346 : 1582-6.

43. Leroy I. Contraception orale et phlébites : les éléments du débat. *Références en gynécologie obstétrique* 1996 ; 2 (4) : 174-6.

44. Daly E, Vessey MP, Hawkins MH, Carson JL, Gough P, Marsh S. Risk of veinous thromboembolism in users of hormone replacement therapy. *Lancet* 1996 ; 348 : 977-80.

45. Jick H, Derby LE, Myers MW, Vasilakis C, Newton KM. Risk of hospital admission for idiopatic venous thromboembolism among users of postmenopausal estrogens. *Lancet* 1996 ; 348 : 981-3.

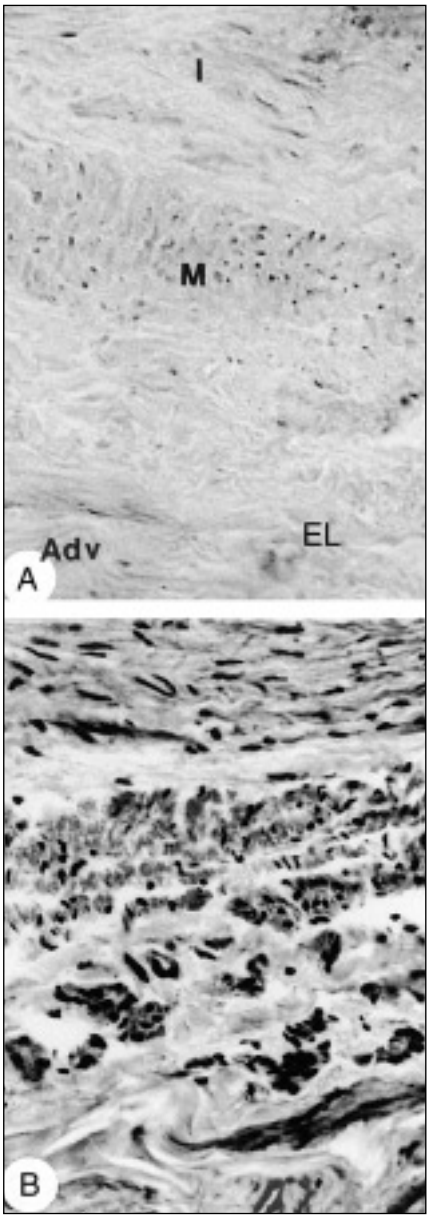

Figure 2. ***Présence de récepteur de la progestérone dans les veines saphènes humaines. A.*** *Les récepteurs de la progestérone sont mis en évidence par immunoperoxydase indirecte sur coupe de tissu (biopsie) congelé puis fixé au PAF. L'immunomarquage, nucléaire, est présent essentiellement au niveau des cellules musculaires lisses. M: média; Adv: adventice; EL* (external lamina): *lame élastique externe; I: intima.* ***B.*** *Coloration histologique (x 250).*

sévères avec ulcères variqueux, est largement répandue dans la population (30 % à 35 % dans une population active en milieu urbain). Selon les données de l'épidémiologie, l'insuffisance veineuse est sans doute un processus multifactoriel: augmentation de la capacité veineuse, altération de la paroi vasculaire avec altération des cellules musculaires lisses, les faisant passer d'un phénotype contractile à un phénotype prolifératif, altération de la microcirculation, phénomène inflammatoire, altérations des contacts entre cellules et matrice extracellulaire, désordres au niveau de la coagulation [40]. Le rôle de la grossesse est manifeste dans la survenue des varices puisque celles-ci apparaissent dans 4 % à 25 % des cas dès la première grossesse. Ce chiffre se multiplie par deux à la deuxième grossesse, par trois ou quatre au-delà et 20 % de ces patientes vont garder une insuffisance veineuse chronique définitive. Le changement d'équilibre hormonal, avec en particulier la prédominance du rôle de la progestérone, constitue sans doute un facteur aggravant de cette affection veineuse, en intervenant sur la relaxation et la distension des parois (comme en témoigne l'augmentation du diamètre des crosses des saphènes au cours de la grossesse), ainsi que sur la perméabilité capillaire. Une action à d'autres niveaux, en particulier dans la synthèse de la matrice extracellulaire n'est pas exclue. Cependant, selon une étude récente [38], la concentration des récepteurs stéroïdiens dans la paroi de veine variqueuse ne semble pas modifiée par rapport aux veines non variqueuses ou à des varices présentant des niveaux différents d'altération de la paroi.

Risque thrombo-embolique

Les effets des stéroïdes ovariens sur le système cardiovasculaire s'exercent également au niveau du système d'hémostase. La thrombose veineuse est favorisée par des altérations de la paroi veineuse, par une stase du flux sanguin et des modifications de l'hémostase.

Contraception orale

La survenue d'un accident thrombo-embolique (artériel et veineux) constitue le risque majeur de la contraception orale. Depuis leur mise sur le marché dans les années 1960, on a rapporté une augmentation du risque thrombo-embolique associé à la prise d'œstro-progestatifs. La responsabilité de l'œstrogène éthinylœstradiol a été démontrée pour des doses élevées (entre 50 et 100 µg d'éthinylœstradiol), et la diminution de la dose utilisée a contribué à réduire le risque de thrombose artérielle. Quant aux études sur le risque de thrombose veineuse, leur interprétation a longtemps été difficile car elles ont été menées chez des femmes traitées avec de fortes doses d'éthinylœstradiol, des progestatifs puissants, sur un faible nombre de femmes ou sans exclure des facteurs de risque connus comme l'alitement prolongé et la chirurgie. Récemment, plusieurs études, indépendantes et multicentriques, se sont attachées à étudier, d'une part, le risque de thrombose veineuse liée à la prise d'œstro-progestatifs et, d'autre part, la variation potentielle de ce risque en fonction du progestatif utilisé [41-43]. Les résultats suggèrent que l'utilisation d'œstro-progestatifs augmenterait le risque de thrombose veineuse par 3,2 dans les pays en voie de développement et par 4,2 en Europe. Les facteurs de risque surajoutés sont: une insuffisance veineuse, une surcharge pondérale, des antécédents d'hypertension artérielle gravidique chez les femmes européennes, des antécédents de rhumatisme articulaire chez les femmes des pays en voie de développement [41]. Curieusement, l'utilisation de progestatifs de troisième génération (progestatif de synthèse) semble augmenter le risque, en dépit de leurs effets métaboliques moindres par rapport aux progestatifs précédemment utilisés [41]. En fait, chez les femmes utilisant une contraception associant une faible dose d'œstrogène (35 µg d'éthinylœstradiol) et des progestatifs de troisième génération, le risque varie selon la nature du progestatif de synthèse par rapport à des témoins sans œstro-progestatifs [42]; en particulier, le risque lié à la prise de gestodène et de désogestrel est environ deux fois supérieur à celui lié à la prise de lévonorgestrel. D'autres études sont nécessaires pour préciser ces données. Il apparaît, néammoins, que si le risque de thrombose veineuse est augmenté sous pilule œstro-progestative, il reste faible.

Des études *in vitro* ont tenté de définir l'impact des œstro-progestatifs sur

l'hémostase. Des modifications de la coagulation (augmentation du fibrinogène et des facteurs II (prothrombine), VII (proconvertine), X (facteur Stuart) et VIII; diminution de l'antithrombine III et de la protéine S ainsi que de la fibrinolyse (augmentation du plasminogène et du tPA (activateur tissulaire du plasminogène), diminution du PAI (inhibiteur de l'activateur du plasminogène)) ont été rapportées, entraînant un déséquilibre entre la formation de fibrine et sa dissolution. En outre, une mutation ponctuelle du gène du facteur V (cofacteur de la protéine C) a été retrouvée chez 20 % des patientes ayant des antécédents de thrombose veineuse, alors qu'elle serait de 5 % dans la population générale *(m/s n° 2, vol. 10, p. 231)*. Une telle mutation (facteur V Leiden) empêche l'inhibition du facteur V par la protéine C activée. Le facteur V persiste alors dans la circulation, induisant un état d'hypercoagulabilité. Le risque associé à l'utilisation de désogestrel semble potentialisé par l'existence d'une mutation sur le facteur V (risque multiplié par 50 chez les femmes hétérozygotes pour le facteur V Leiden et prenant du désogestrol par rapport aux à des femmes sans mutation et ne prenant pas d'œstro-progestatifs).

En conclusion, même si le risque de thrombose veineuse sous contraception orale est rare, il est indispensable de limiter l'utilisation d'œstro-progestatifs chez les femmes à risque (surcharge pondérale, tabagisme, antécédents d'hypertension artérielle gravidique, insuffisance veineuse, antécédent de thrombose veineuse et d'accident vasculaire cérébral). Néanmoins, l'intérêt de la pilule œstroprogestative comme contraception fiable et réversible reste indéniable pour des millions de femmes dans le monde [43].

Traitement substitutif de la ménopause

La ménopause naturelle n'induit pas de troubles de l'hémostase pouvant favoriser la survenue de thrombose veineuse. L'hormonothérapie substitutive de la ménopause, de plus en plus utilisée pour pallier les effets de la carence hormonale sur l'os et les risques d'accidents cardiovasculaires, n'a fait que très récemment l'objet de données relatives au risque veineux [44, 45]. Dans ces deux études épidémiologiques, le risque relatif de présenter un accident thrombo-embolique est multiplié par un facteur 3,5 (intervalle de confiance à 95 %: 1,6-7,0), ce risque diminuant cependant avec la dose d'œstrogène utilisée et avec le temps. En conclusion, les données sont encore peu nombreuses pour autoriser sans réticence le traitement hormonal de la ménopause en cas d'antécédents de maladie thrombo-embolique.

Conclusion

Des arguments de plus en plus nombreux appuient l'implication des hormones ovariennes dans la prolifération des cellules endothéliales et des cellules musculaires lisses vasculaires et, plus généralement, dans les processus de remodelage vasculaire, artériel et veineux**.** De fait, l'étude des relations entre œstro-progestatifs et pathologie cardiovasculaire fait apparaître un effet bénéfique sur certains aspects (athérome) mais également des effets néfastes possibles dans d'autres domaines de cette même pathologie (varices, risque thrombo-embolique). En particulier, les œstroprogestatifs de la contraception restent contre-indiqués en cas d'antécédent de maladie thrombo-embolique. Les perspectives thérapeutiques passent notamment par le développement des recherches *in vitro* sur l'effet des stéroïdes sur les différents types cellulaires d'artère ou de veine, associé à des études histologiques, biochimiques et pharmacologiques. Des travaux récents ont permis de détecter la présence des récepteurs vasculaires des stéroïdes ovariens, et de les localiser dans les parois artérielle et veineuse grâce à l'utilisation d'anticorps monoclonaux antirécepteurs et de sondes spécifiques des ADNc. L'étude des gènes activés ou réprimés par ces hormones dans le tissu vasculaire ne fait que commencer; elle ouvre un champ nouveau pour l'analyse fine des mécanismes impliqués dans les modifications vasculaires ayant une composante hormonale, qu'il s'agisse d'effets génomiques ou d'effets à plus court terme modifiant la physiologie membranaire (flux ioniques, par exemple). Comprendre ces mécanismes sera également intéressant pour préciser les cibles susceptibles d'être modulées par des agents pharmacologiques ■

Summary

Role of ovarian hormones on vascular proliferation in venous pathology

Ovarian steroids play an essential pathophysiological role on the vascular system. They are involved in multiple phenomena, controling vasculogenesis in menstrual cycle and pregnancy, inhibiting the proliferation of smooth muscle cells in the arterial wall (apart from the genital tract), explaining thus the protective role of estrogens against atherosclerosis, participating in the venous insufficiency mechanisms, modifying hemostasis. Thrombo-embolic risk of oral contraception is globally slight but is heightened by several associated risk-factors, such as thrombotic factor V Leiden, tobacco smoking, varices…, etc.

BIODOCS