

Prix de Thèse GREMI 2013 ex-aequo :
Rôle de la prostaglandine E₂ et du sulfure d'hydrogène dans
la physiopathologie de la veine saphène humaine

Ingrid GOMEZ

Ce travail de Thèse a été réalisé sous la direction du Dr Xavier Norel
à l'unité INSERM U1148, Paris

Les veines variqueuses sont des manifestations chroniques d'insuffisances veineuses, elles sont caractérisées par un reflux et une stase veineuse du sang désaturé en oxygène (Jacob *et al.*, 2002). Différentes hypothèses expliquent qu'elles seraient dues soit à une hypertension veineuse, soit à une anomalie congénitale des valvules veineuses anti-reflux (Golledge *et al.*, 2003; Lim *et al.*, 2009). Sur le plan clinique et histologique les varices de la veine saphène sont la conséquence d'une modification et d'une réorganisation de la matrice extracellulaire des parois vasculaires (Badier-Commander *et al.*, 2001). De plus, la présence de cellules et/ou de médiateur de l'inflammation est controversée (Badier-Commander *et al.*, 2001; Sayer *et al.*, 2004) malgré l'utilisation de certains anti-inflammatoires afin de soulager la douleur.

Afin de comprendre cette pathologie, nous avons étudié la physiologie de la veine saphène saine et variqueuse au stade C2. Dans les varices, nous avons mesuré de nombreux facteurs de l'inflammation cellulaires (comme les macrophages et les neutrophiles) et acellulaires (tel que la protéine C réactive, la pentraxine-3, la phospholipase A₂ du groupe IIA (Figure 1.) ou encore la cyclooxygénase -2). L'absence ou des concentrations réduites a été observé dans la paroi des varices en comparaison des SV, ceci révèle l'absence d'inflammation dans les varices au stade C2.

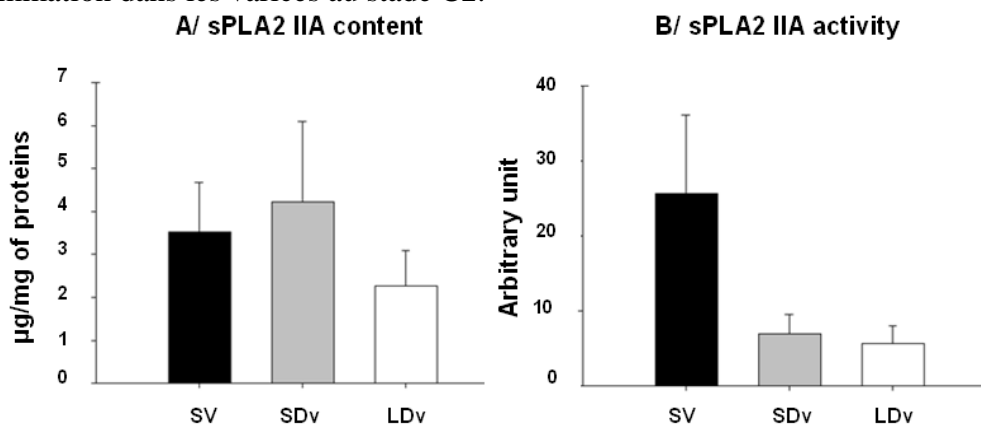


Figure 1. A/ Niveau protéique de la phospholipase A₂ du groupe IIA secrétée (sPLA₂ IIA) et activité enzymatique dans les varices de petits et grands diamètres (SDv et LDv, n=5) en comparaison avec la veine saphène saine (SV, n=5). sPLA₂ déterminée dans les surnageants après 30 min d'incubation.

Après avoir analysé l'état inflammatoire notre étude a été de comprendre le rôle de la prostaglandine (PG) E₂ et du sulfure d'hydrogène (H₂S) dans cette pathologie. La PGE₂ est un lipide bioactif qui peut contrôler le tonus vasculaire et induire l'activation des métalloprotéinases matricielles (MMP) (Lee *et al.*, 2011) généralement augmentée en situation inflammatoire. Des études récentes ont montré que la production de cette PG peut être régulée par l'H₂S (Li *et al.*, 2013; Whiteman *et al.*, 2010). Ce gaz endogène serait fortement impliqué dans le système cardiovasculaire (Liu *et al.*, 2012) et de par son inhibition de la PGE₂ aurait un rôle anti-inflammatoire.

Nos études ont montré que la PGE₂ est largement produite par les parois des veines saphènes saines (SV) et par leurs graisses périvasculaires ; elle induit la vasorelaxation de ces veines en activant le récepteur EP4. De plus, l'absence d'augmentation de cette PG conforte l'absence d'inflammation. La PGE₂ et le récepteur EP4 étant exprimés dans la veine saine, une étude sur son implication dans le remodelage de la paroi a été effectuée. Le contenu en

récepteur EP4 ainsi que les concentrations en PGE₂ sont diminués dans les varices. Les diminutions en PGE₂ peuvent s'expliquer par l'augmentation de l'enzyme de dégradation (15-PGDH) et une baisse d'expression des enzymes nécessaires à sa production et en particulier de la PGE synthétase-1 microsomale qui est constitutive dans les VS. Cette dérégulation entraîne un déficit de l'activation des MMP-1 et induit l'expression de leurs inhibiteurs endogènes (TIMP)-1 et TIMP-2. Dans la paroi des varices, la diminution des ratios MMP-1 active/TIMP-1 et MMP-1 active/TIMP-2 calculés à partir de nos résultats peut expliquer l'accumulation des collagènes observés dans les varices. Finalement, nos expériences ont montré que le taux d'H₂S endogène est deux fois plus élevé dans les varices par rapport aux SV. L'utilisation d'un donneur d'H₂S (NaHS) inhibe la synthèse de PGE₂ (Figure 2.). L'utilisation d'un inhibiteur de la synthèse endogène de ce gaz induit une augmentation de cette PG au même niveau de production que ceux observés dans la VS.

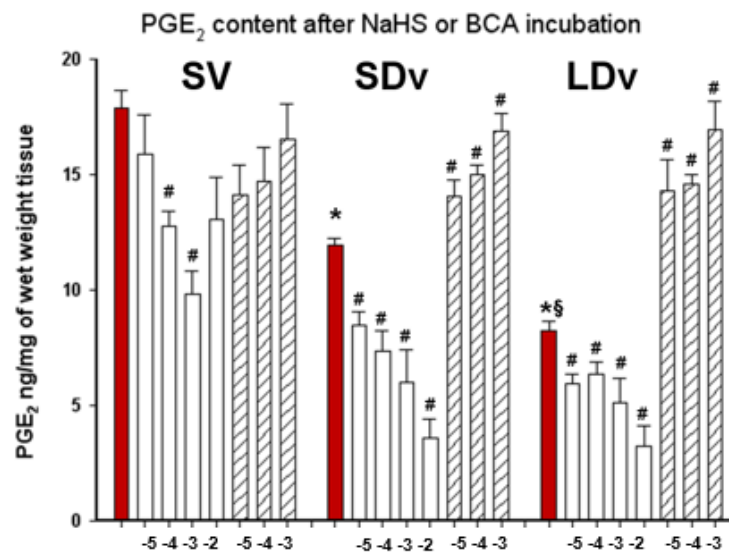


Figure 2. Contenu en PGE₂ dans les varices de petits et grands diamètre (SDv et LDv, n=16) en comparaison avec la veine saphène saine (SV, n=15). Les contrôles sont représentés par les barres rouges (n=9 les concentrations sont exprimées en logarithme). Les barres blanches indiquent les tissus traités avec le donneur d'H₂S (NaHS) et les barres hachurées ceux traités avec l'inhibiteur d'H₂S (beta cyano L alanine, BCA, n=9 les concentrations sont exprimées en logarithme). Résultats obtenues après 24h d'incubation par ELISA.

En conclusion, l'H₂S aurait un effet anti-inflammatoire et serait en partie responsable de l'épaississement de la paroi des veines saphènes variqueuses par l'inhibition de la production de la PGE₂ ainsi que par la diminution des ratios MMP-1 active/TIMP. Ce gaz endogène pourrait jouer un rôle protecteur en renforçant la paroi vasculaire pour résister à la stase veineuse. Ce remodelage permettrait d'éviter l'ectasie veineuse et une rupture de la paroi.

Badier-Commander C, Couvelard A, Henin D, Verbeuren T, Michel JB, Jacob MP (2001). Smooth muscle cell modulation and cytokine overproduction in varicose veins. An in situ study. *J Pathol* **193**(3): 398-407.

Golledge J, Quigley FG (2003). Pathogenesis of varicose veins. *Eur J Vasc Endovasc Surg* **25**(4): 319-324.

Jacob MP, Cazaubon M, Scemama A, Prie D, Blanchet F, Guillin MC, et al. (2002). Plasma matrix metalloproteinase-9 as a marker of blood stasis in varicose veins. *Circulation* **106**(5): 535-538.

Lee J, Banu SK, Subbarao T, Starzinski-Powitz A, Arosh JA (2011). Selective inhibition of prostaglandin E2 receptors EP2 and EP4 inhibits invasion of human immortalized endometriotic epithelial and stromal cells through suppression of metalloproteinases. *Mol Cell Endocrinol* **332**(1-2): 306-313.

Li L, Fox B, Keeble J, Salto-Tellez M, Winyard PG, Wood ME, et al. (2013). The complex effects of the slow-releasing hydrogen sulfide donor GYY4137 in a model of acute joint inflammation and in human cartilage cells. *J Cell Mol Med* **17**(3): 365-376.

Lim CS, Davies AH (2009). Pathogenesis of primary varicose veins. *Br J Surg* **96**(11): 1231-1242.

Liu YH, Lu M, Hu LF, Wong PT, Webb GD, Bian JS (2012). Hydrogen sulfide in the mammalian cardiovascular system. *Antioxid Redox Signal* **17**(1): 141-185.

Sayer GL, Smith PD (2004). Immunocytochemical characterisation of the inflammatory cell infiltrate of varicose veins. *Eur J Vasc Endovasc Surg* **28**(5): 479-483.

Whiteman M, Li L, Rose P, Tan CH, Parkinson DB, Moore PK (2010). The effect of hydrogen sulfide donors on lipopolysaccharide-induced formation of inflammatory mediators in macrophages. *Antioxid Redox Signal* **12**(10): 1147-1154.