

L'ENDOTHÉLIUM, PLAQUE TOURNANTE DE LA VASOMOTRICITÉ ET DE LA TROPHICITÉ DE LA PAROI ARTÉRIELLE

Pierre Corvol

Le rôle de l'endothélium dans la circulation sanguine est connu depuis longtemps des physiologistes. « Le sang reste fluide dans les vaisseaux vivants mais coagule dans les vaisseaux morts », notait Ernst Brücke en 1857. L'endothélium assure de nombreuses fonctions : il inhibe la coagulation du sang, métabolise certaines hormones circulantes, constitue une barrière sélective aux protéines plasmatiques, synthétise des facteurs de croissance qui agissent sur les éléments figurés du sang et les cellules musculaires lisses vasculaires sous-jacentes, transporte des lipoprotéines et des substances vasoactives dans la paroi vasculaire. Ce n'est que récemment que le rôle de cet « organe » de 2 kg, couvrant 1 000 m² de surface, dans le tonus vasculaire et la trophicité de la paroi artérielle a été découvert. L'endothélium module le tonus vasculaire et donc le débit sanguin tissulaire régional par la production de vasodilatateurs (prostacycline, bradykinine et monoxyde d'azote) et de vasoconstricteurs (endothéline, angiotensine II). Ces mêmes substances sont capables, à long terme, d'agir sur la structure des cellules musculaires lisses vasculaires sous-jacentes, les vasodilatateurs en inhibant leur croissance et les vasoconstricteurs en les stimulant. L'intégrité de la fonction endothéliale est donc essentielle pour le contrôle du tonus vasculaire et la structure de la paroi artérielle.

Il existe une pathologie de l'endothélium. L'altération de l'endothélium,

telle qu'on peut l'observer dans les processus dégénératifs cardiovasculaires chroniques (hypertension, athérosclérose) ou la provoquer (dénudation intimale expérimentale, angioplastie artérielle chez l'homme, rejet de greffe), entraîne des anomalies de l'état de tension des vaisseaux et favorise la prolifération des cellules musculaires lisses vasculaires. L'endothélium et la paroi artérielle sont facilement accessibles aux produits administrés par voie parentérale, voire aux gènes ou aux oligonucléotides antisens. Une recherche pharmacologique active s'attache à suppléer ou à s'opposer aux différents produits synthétisés par l'endothélium dans des processus pathologiques.

Endothélium et monoxyde d'azote : arguments pour une vasodilatation tonique

En 1980, Furchgott et Zawadzki faisaient une observation d'importance considérable : l'acétylcholine entraîne une vasorelaxation dans des anneaux aortiques dont l'endothélium est intact ; lorsque l'endothélium est mécaniquement ou chimiquement détruit, l'acétylcholine n'exerce plus aucun effet ou devient contracturante [1]. Cela impliquait la présence d'un facteur dérivé de l'endothélium, capable de relayer la vasorelaxation de l'acétylcholine (*endothelium derived relaxing factor*, EDRF). Quelques années plus tard, on a pu démontrer que l'EDRF était le monoxyde d'azote. Les cellules endothéliales sti-

ADRESSE

P. Corvol : professeur au Collège de France. Inserm U. 36, Collège de France, 3, rue d'Ulm, 75005 Paris, France.

TIRÉS A PART

P. Corvol.

mulées par des agents comme la bradykinine libèrent un produit labile, identifié par chimioluminescence, le monoxyde d'azote. La cellule endothéliale synthétise, à partir de la L-arginine, le monoxyde d'azote qui diffuse dans la cellule musculaire lisse vasculaire sous-jacente. Le monoxyde d'azote interagit avec la guanylate cyclase soluble des cellules musculaires lisses vasculaires pour produire le GMP cyclique qui, lui-même, par une série de phosphorylations, entraîne une vasorelaxation.

L'importance du monoxyde d'azote en physiologie et pathologie vasculaire a pu être étudiée de façon précise par des inhibiteurs de la NO synthase, comme le L-NMMA ou la L-NAME, analogues de la L-arginine et antagonistes compétitifs de l'enzyme (voir revue dans [2]). La NO synthase des cellules endothéliales est constitutive et stimuable par l'élévation du calcium intracellulaire, elle-même secondaire à l'effet de nombreux agents tels que l'acétylcholine, la bradykinine, la sérotonine, l'ATP, les forces de cisaillement [3]. La NO synthase endothéliale a une action immédiate et produit des picomoles de NO, durant une courte durée.

Le tonus vasculaire artériel semble influencé par une libération permanente, constitutive, de monoxyde d'azote qui contrôlerait la pression artérielle basale et les flux sanguins régionaux. En effet, l'inhibition aiguë de la NO synthase par L-NMMA entraîne une élévation de la pression artérielle chez l'animal. Un nouveau modèle d'hypertension artérielle expérimentale a pu être mis au point par administration chronique de L-NMMA [4]. Le monoxyde d'azote exercerait un effet vasodilatateur tonique, variable en fonction des territoires vasculaires. Ainsi, le rein semble être particulièrement sensible à l'administration de bloqueurs de la NO synthase [5, 6]. Le monoxyde d'azote s'oppose à toutes les actions exercées par l'angiotensine II et pourrait ainsi contrebalancer physiologiquement l'effet de ce peptide.

Une question essentielle est celle du rôle du monoxyde d'azote en pathologie cardiovasculaire. Il est possible,

mais non prouvé, qu'un défaut de production de monoxyde d'azote soit à l'origine de certaines élévations tensionnelles. Ainsi en serait-il du rat génétiquement hypertendu, sensible au sel (rats Dahl), chez lequel l'administration de L-arginine abaisse la pression artérielle, peut-être en stimulant la production de monoxyde d'azote [7]. Chez l'homme hypertendu, la perfusion d'acétylcholine entraîne une élévation moins importante du débit sanguin de l'avant-bras que chez le normotendu [8]. De même, on a montré des anomalies de la vasorelaxation dépendant de l'endothélium sur des artères coronaires athéromateuses. Il est possible que l'endommagement ou la destruction de l'endothélium, notamment par l'athérosclérose, entraîne une incapacité à synthétiser correctement du monoxyde d'azote, avec pour conséquence une diminution de la vasorelaxation et, peut-être, un effet permissif sur la prolifération cellulaire.

Endothélium et endothélines : rôle physiologique et pathologique ?

L'endothélium synthétise un peptide vasoconstricteur à action locale, l'endothéline 1 [9], peptide cyclique de 21 acides aminés, issu d'un précurseur de 203 acides aminés, la préproendothéline. La *big* endothéline est mûrie à partir de ce précurseur et donne l'endothéline après clivage au niveau d'une liaison tryptophane-valine. Ce clivage s'effectue par une enzyme appelée *endothelin converting enzyme* (ECE).

L'endothéline 1 exerce un effet vasodilatateur bref, suivi d'un effet vasoconstricteur et hypertenseur très puissant et prolongé. Ses effets rénaux s'opposent à ceux du monoxyde d'azote : élévation des résistances vasculaires rénales, diminution de la filtration glomérulaire et du flux sanguin rénal, élévation de la réabsorption de sodium. Enfin, l'endothéline exerce un effet mitogénique : stimulation de la prolifération des cellules musculaires lisses vasculaires et des cellules mésangiales glomérulaires. La régulation de la production d'endothéline est essentiellement transcrip-

tionnelle. De nombreux facteurs comme l'hypoxie, des hormones comme l'angiotensine II ou la vasopressine, stimulent la transcription du gène de l'endothéline 1.

L'endothéline 1 agit sur un récepteur couplé aux protéines G (récepteur ET_A) situé au niveau des cellules musculaires lisses vasculaires dont la stimulation entraîne une activation de la phospholipase C, une augmentation du calcium intracellulaire et une vasoconstriction [10]. L'endothéline, par son action vasoconstrictrice et mitogénique, s'oppose point par point aux effets de NO. Toutefois, alors qu'il semble bien que NO soit produit de façon tonique dans l'endothélium, rien ne prouve qu'il existe une production constante et physiologique d'endothéline. En théorie, l'importance relative de la vasorelaxation ou de la vasoconstriction pourrait dépendre de la balance entre la production d'endothéline et celle du monoxyde d'azote.

L'endothéline circule dans le plasma, mais en faible concentration (pmole/l), et ses variations en pathologie vasculaire sont de faible amplitude. L'importance en physiologie et en pathologie cardiovasculaires de l'endothéline reste donc très hypothétique. La découverte récente d'antagonistes des récepteurs des endothélines va permettre d'assigner un rôle précis à ce peptide en physiopathologie cardiovasculaire. Ces antagonistes inhibent le récepteur ET_A de façon plus spécifique que le récepteur ET_B , situé sur la cellule endothéliale [11]. Compte tenu des effets pathologiques supposés de l'endothéline, ils pourraient avoir un effet antihypertenseur chez le rat génétiquement hypertendu, diminuer l'hypertrophie cardiaque secondaire à l'hypertension, lever le vasospasme après hémorragie méningée, diminuer l'hypertension artérielle pulmonaire. Une autre voie de recherche est celle de l'inhibition de l'enzyme de maturation de la *big* endothéline en endothéline (ECE). Cette enzyme est vraisemblablement une métallopeptidase, apparemment spécifique, qui peut être inhibée par le phosphoramidon mais non par le captopril ou le thiorphan. Ces deux approches devraient permettre de mieux cerner le rôle physiopathologi-

que de l'endothéline et conduire, éventuellement, à des agents thérapeutiques.

**Modifier le phénotype de l'endothélium ?
Premières tentatives de transfert de gènes et d'oligonucléotides antisens dans la paroi artérielle**

Du fait du vieillissement, de l'hypertension, de l'hypercholestérolémie, la paroi vasculaire est le siège de modifications pathologiques locales pouvant aboutir à la sténose et à la thrombose. Plusieurs types de traitements médicamenteux (anticoagulants, thrombolytiques, hypocholestérolémiant), ou la dilatation des artères sténosées sont actuellement proposés en cas de sténose artérielle. Une autre voie d'approche, éventuellement complémentaire, consisterait à modifier le phénotype des cellules de la paroi artérielle grâce à un transfert de gènes ou d'oligonucléotides antisens. Le modèle expérimental le plus étudié est celui de la prolifération néo-intimale carotidienne qui suit une dénudation endothéliale. On observe, après abrasion de l'endothélium de la carotide primitive du rat, une prolifération des cellules musculaires lisses vasculaires, maximale en 48 heures, avec production de matrice extracellulaire et migration des cellules musculaires lisses vasculaires vers l'intima. La prolifération néo-intimale est maximale en 96 heures et des lésions d'athérosclérose, aboutissant à une sténose carotidienne, surviennent. Ce modèle murin a ses limites puisque le degré de prolifération néo-intimale est fonction de l'importance du traumatisme des cellules endothéliales et des cellules musculaires lisses vasculaires et qu'il ne semble pas permettre de prédire des résultats thérapeutiques à attendre chez le porc, le primate et l'homme. Toutefois, ce modèle a l'avantage d'étudier de façon simple la faisabilité et l'effet du transfert de gènes et d'oligonucléotides antisens dans la paroi artérielle.

Des cellules endothéliales autologues en culture primaire ont été transfectées

par un vecteur rétroviral contenant le gène de la β -galactosidase puis transférées *in vivo* dans un segment vasculaire dénudé [12]. Un faible pourcentage de cellules transfectées colonise l'endothélium et exprime le gène de la β -galactosidase pendant deux à quatre semaines après transfert. La lourdeur de ces expériences, qui impliquent la mise en culture de cellules endothéliales autologues et la sélection des cellules transfectées, a amené à essayer de transférer directement le gène de la β -galactosidase ou de la luciférase *in vivo* dans des artères dénudées et isolées du sang circulant pendant un temps bref [13]. Il est ainsi possible de transférer dans la paroi artérielle (cellules endothéliales et cellules musculaires lisses vasculaires) des rétrovirus ou des plasmides, et d'obtenir une persistance de l'expression d'un gène traceur pendant quelques semaines. Toutefois, les limites de ces expériences sont la variabilité de l'expression du gène traceur et l'efficacité très faible de la transfection *in vivo*.

Une étude récente montre qu'il pourrait être possible d'administrer des oligonucléotides antisens dans la paroi artérielle afin d'inhiber la prolifération néo-intimale. Simmons *et al.* ont administré un oligonucléotide phosphorothioate anti-*c-myc* et observé une inhibition de la prolifération néo-intimale à l'endroit de l'administration pendant deux semaines [14]. Bien qu'il ne s'agisse que d'une expérience unique pour l'instant, elle ouvre la voie à une thérapie ciblée de la paroi artérielle, particulièrement intéressante dans la mesure où un tiers des patients ayant subi une dilatation des artères coronaires ont une resténose dans l'année qui suit. Aucun traitement médical ne semble pour l'instant permettre d'éviter cette resténose. L'association d'un geste mécanique de dilatation à une thérapie génique ou par oligonucléotide antisens pourrait permettre d'éviter cette resténose. Les conditions requises pour une telle thérapie seraient que cette action soit locale, limitée dans le temps, réversible et rapide. Elle devrait porter sur des cellules prolifératives et non sur les cellules quiescentes et être, bien entendu, dénuée de risque ■

RÉFÉRENCES

1. Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980 ; 288 : 373-6.
2. Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA. Nitric oxide : physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol Rev* 1991 ; 43 : 109-42.
3. Davies PF, Tripathi SC. Mechanical stress mechanisms and the cell. An endothelial paradigm. *Circ Res* 1993 ; 72 : 239-45.
4. Bayliss C, Mitruka B, Deng A. Chronic blockade of nitric oxide synthesis in the rat produces systemic hypertension and glomerular damage. *J Clin Invest* 1992 ; 90 : 278-81.
5. Arnal JF, Warin L, Michel JB. Determinants of aortic cyclic GMP in hypertension induced by chronic inhibition of nitric oxide synthase. *J Clin Invest* 1992 ; 90 : 647-52.
6. Shultz PJ, Tolins JP. Adaptation to increased dietary salt intake in the rat. Role of endogenous nitric oxide. *J Clin Invest* 1993 ; 91 : 642-50.
7. Chen PY, Sanders PW. L-arginine abrogates salt sensitive hypertension in Dahl/Rapp rats. *J Clin Invest* 1991 ; 88 : 1559-67.
8. Panza JA, Quyyumi AA, Brush JE, Epstein SE. Abnormal endothelium-dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension. *N Engl J Med* 1990 ; 323 : 22-7.
9. Yanagisawa M, Kurihara H, Kumura S, *et al.* A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* 1988 ; 332 : 411-5.
10. Masaki T. Endothelins : homeostatic and compensatory actions in the circulatory and endocrine systems. *Endocrine Rev* 1993 ; 14 : 256-68.
11. Gray GA, Clozel M, Breu V, Löffler BM. *In vitro* pharmacological properties of Ro46-2005, a non-peptidic antagonist of ET_A and ET_B receptors. Abst. IIrd International Conference on Endothelin, Houston, February 15-17, 1993.
12. Nabel EG, Plantz G, Boyu FM, Stanley JC, Nabel GJ. Recombinant expression *in vivo* within endothelial cells of the arterial wall. *Science* 1989 ; 244 : 1342-4.
13. Nabel EG, Plantz G, Nabel GJ. Site-specific gene expression *in vivo* by direct gene transfer into the arterial wall. *Science* 1990 ; 249 : 1285-8.
14. Simmons M, Edelman ER, DeKeyser JL, Langer R, Rosenberg RD. Antisense *c-myc* oligonucleotides inhibit intimal arterial A smooth muscle cell accumulation *in vivo*. *Nature* 1992 ; 359 : 67-70.